Ropeginterferon alfa-2b
ベスレミ皮下注 250 μg シリンジ
ベスレミ皮下注 500 μg シリンジ

第 2 部 CTD の概要
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.6 毒性試験の概要文

ファーマエッセンシアジャパン株式会社

略号一覧表

略語・用語	内容
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	薬物血中濃度－時間曲線下面積
BUN	血中尿素窒素
BUN/C	血中尿素窒素/クレアチニン比
CHO	チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	最高血中濃度
CYP450	チトクローム P450
DNA	デオキシリボ核酸
FDA	米国食品医薬品庁
GLP	医薬品の安全性試験実施基準
GMP	医薬品の製造管理及び品質管理に関する基準
IFN	インターフェロン
NOAEL	無毒性量
NOEL	無影響量
MCHC	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MoE	曝露量比
MPN	骨髄増殖性新生物
MTD	最大耐量
OECD	経済協力開発機構
PEG	ポリエチレングリコール
Ph-neg	フィラデルフィア染色体陰性
PK	薬物動態
PLT	血小板数
PMDA	独立行政法人医薬品医療機器総合機構
PV	真性多血症
S9 mix	補酵素類添加肝臓 S9 分画
T_{max}	最高血中濃度到達時間

目次

頁
略号一覧表 2
2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 7
2.6.6.3 反復投与毒性試験 7
2.6.6.3.1 ラットを用いた単回及び反復皮下投与予備試験（**Study No. 7975-100**） 7
2.6.6.3.2 ラットを用いた 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（**Study No. 511-20060035**） 8
2.6.6.3.3 カニクイザルを用いた漸増用量設定試験及び 7 日間反復投与毒性試験（**Study No. 7975-102**） 10
2.6.6.3.4 カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（**Study No. 7975-101**） 12
2.6.6.3.5 カニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性試験（**Study No. 44103-08-300**） 14
2.6.6.3.6 カニクイザルを用いた 2 つのロットの 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性比較試験（**Study No. 7975-107**） 16
2.6.6.4 遺伝毒性試験 18
2.6.6.4.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（**Study No. 7975-104**） 18
2.6.6.4.2 チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた染色体異常試験（**Study No. 7975-105**） 18
2.6.6.5 がん原性試験 20
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 20
2.6.6.6.1 カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験（**Study No. SBL462-004**） 20
2.6.6.7 局所刺激性試験 23
2.6.6.8 その他の毒性試験 23
2.6.6.9 考察及び結論 23
2.6.6.10 図表 25
2.6.6.11 参考文献 26

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

真性多血症（PV）はフィラデルフィア染色体陰性（Ph-neg）骨髄増殖性腫瘍（Myeloproliferative neoplasms; MPN）に属し、血小板増加、白血球増加、赤血球増加及び骨髄線維化などを特徴とする。PV の軽度な症状として、頭痛、疲労、浮動性めまい、視力障害、回転性めまい、耳鳴り、そう痒や肢端紅痛症がみられるが、これらは非特異的で、血球数の増加に伴う血液粘度の上昇に関連している。PV では長期間に渡って衰弱が継続し，血栓や出血といった生命の危険な状態に陥る。また，骨髄線維症や二次性の急性骨髄性白血病に進展する可能性のある状態が長期間持続する[Griesshammer, 2015][Stein, 2015]。インターフェロン（INF）又はペグインターフェロンは PV 治療に適応外使用され、高率の持続的臨床反応が示されている[Kiladjian, 2008][Quintas-Cardama, 2009]。

Ropeginterferon alfa-2b （ペグ化プロリン IFN alpha-2b）（原薬、P1101；最終製剤、AOP2014）は、IFN-α-2b の N 末端にプロリン残基を付加し、当該プロリン残基に共有結合を介して約 40 kDa の二分枝型メトキシポリエチレングリコール（mPEG）を接合させた遺伝子組み換え IFN-α-2b 製剤である。本剤の活性本体は IFN-α-2b であるが、PEG と接合することで *in vivo* 安定性が改善されている。P1101 は PV の治療薬として期待されている。

P1101 の非臨床毒性試験プログラムは、製品の特性及び予定する用法を考慮してデザインされた。用量設定試験はラット及びカニクイザルを用いて実施した。重要な 4 週間反復投与毒性試験における意義のある動物種としてカニクイザルを選択した。更に 2 つの比較毒性試験を実施し、P1101 の毒性試験ロットと臨床ロットを比較した。また、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）との[redacted]相談（令和[redacted]年[redacted]月[redacted]日）において、[redacted]との指摘を受け、ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験を実施した。

現行のガイドライン（ICH S6 (R1)）によると、医薬品に通常実施される範囲及び種類の遺伝毒性はバイオ医薬品には求められないが、P1101 については細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）及び CHO 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験を実施し、遺伝毒性を評価した。また、PMDA との[redacted]相談（令和[redacted]年[redacted]月[redacted]日）結果に基づき、生殖発生毒性評価の一環として、カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施した。

カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験及びロット比較試験、ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験、並びに遺伝毒性試験は、米国連邦規則集 Part 58 の Title 21 に記載されているように米国食品医薬品庁（FDA）の非臨床試験 GLP に準拠して、またカニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令に準拠して実施した。プログラム概要を表 2.6.6-1 に示す。

表 2.6.6-1　P1101 の毒性試験概要

試験の種類	種/系統	投与方法	GLP 適合性	Module(試験)番号
反復投与毒性				
単回及び反復投与用量設定試験	Rat / Crl:CD(SD)	皮下投与	非適用	4.2.3.2.2 (7975-100)
13 週間反復投与毒性	Rat / CD (SD) IGS	皮下投与	適用	4.2.3.2.1 (511-20060035)
漸増及び反復投与用量設定試験	カニクイザル	皮下投与	非適用	4.2.3.2.3 (7975-102)
4 週間反復投与毒性	カニクイザル	皮下投与	適用	4.2.3.2.4 (7975-101)
14 日間反復投与毒性（ロット比較）	カニクイザル	皮下投与	適用	4.2.3.2.5 (44103-08-300)
14 日間反復投与毒性（ロット比較）	カニクイザル	皮下投与	適用	4.2.3.2.6 (7975-107)
遺伝毒性				
細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）	ネズミチフス菌株（TA98、TA100、TA1535、 TA1537）大腸菌（WP2uvrA）	*In vitro*	適用	4.2.3.3.1.1 (7975-104)
染色体異常試験	チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞	*In vitro*	適用	4.2.3.3.1.2 (7975-105)
生殖発生毒性				
胚・胎児発生に関する試験	カニクイザル	皮下投与	適用	4.2.3.5.2.1 (SBL462-004)

用量設定試験では、P1101 をラット及びカニクイザルに皮下投与した。ヒトインターフェロンα-2b はげっ歯類で不活性であるという概念（ペグイントロンの FDA レビュー、BLA 番号 99-1488）に一致して、20 mg/kg の最高用量までラットに被験物質に関連した影響は認められなかった。カニクイザルにおいては、用量漸増及び反復投与レジメンにより最高 6.75 mg/kg/日まで検討した。被験物質に関連した所見（摂餌量の低下、中等度から顕著な網状赤血球数の減少及び活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の延長）は、概して 2 及び 6.75 mg/kg を 11 日間で 3 回反復皮下投与した動物に認められた。これらの結果に基づき、無毒性量（NOAEL）は 2 mg/kg 未満と考えられた。

ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験では、P1101 をヒト最大用量の 78 倍の高用量（4 mg/kg）まで週 1 回 13 週間投与した結果、臨床症状、体重、摂餌量、血液学的検査、生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検、病理組織学的検査において、ペグ部分を含め被験物質に関連した変化は認められなかった。投与部位に剖検及び病理組織学的所見がみられたが、溶媒対照群と比べ程度及び頻度に差はなく、また回復性が認められた。本試験における NOAEL は 4 mg/kg と判断された。

カニクイザルを用いた重要な毒性試験では、4 週間に 8 回皮下投与した後、4 週間の回復期間を設けた。すべての用量で摂餌量の低下が認められ、高用量群（6.75 mg/kg）の動物で最も頻度が高かった。血液学的検査及び血液生化学的検査パラメータへの影響はおおむね軽度の変化で、投与期間終了時まで又は回復期間中に回復した。局所刺激性変化として、投与部位にリンパ球及びマクロファージの浸潤の増加がみられたが、回復期間終了時にはほぼ回復又は程度の軽減が認められた。摂餌量の低下は非有害性の影響であったことから、本試験における NOAEL は 6.75 mg/kg

と考えられた。被験物質の全身曝露量は雌雄間で類似しており、用量比例的に増加した。最終投与後に、抗薬物抗体及び中和抗体の産生を反映した曝露量（C_{max} 及び AUC）の減少が認められた。しかしながら、投与期間を通し確認された曝露量は、P1101 の毒性を評価するのに十分な量であったと考えられた。

カニクイザルを用いた 2 つの比較試験を実施し、GLP 毒性試験で用いた P1101 のロットと GMP 臨床ロットとを比較した。総じて、ロット間に意義のある違いは認められなかった。

遺伝毒性試験において、P1101 は Ames 試験で陰性であったが、代謝活性化の条件下で培養 CHO 細胞と短期間インキュベーションした結果、染色体異常の増加が認められた。染色体異常発現率のわずかな増加が、代謝活性化条件下で 795 及び 1190 μg/mL の高濃度でみられた。代謝活性化の非存在下では、短期又は長期インキュベーションのいずれにおいても染色体異常頻度の増加はみられなかった。タンパク質は代謝活性化に用いる CYP450 酵素ではなく、プロテアーゼによって代謝されることから、代謝活性化条件下での陽性反応は擬陽性の可能性が高いと考えられる。この考えは、IFNα-2b 製剤及びペグ IFN 製剤には一貫して遺伝毒性や染色体異常誘発性は認められていないことからも支持される。

カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験において、0.675 mg/kg 以上の用量で流産及び胚死亡がみられた。同様に IFNα-2b（イントロン A）はアカゲザルにおいて流産を促進することが示されている。ペグイントロン又はイントロン A の雌カニクイザルへの投与は卵巣機能を抑制し、血清エストラジオール及びプロゲステロンのピーク濃度を低下させる[Enright, 2009]。ヒト IFNα-2b を有効成分とする点で、P1101 はこれら既承認製剤と同じであることから、雌の生殖機能へ類似の影響を及ぼすと考えられる。P1101 を投与する患者には、適切な避妊法を用いることを助言されるべきである。

P1101 は 2 週間ごとの投与スケジュールを採用し、ヒトに長期使用する予定である。毒性試験においては中和抗体を含む抗薬物抗体が産生されることから、4 週間を超える投与期間は採用できず、このことが 4 週以降の被験物質への曝露を妨げている。しかしながら、重要な毒性試験において 4 週間の投与期間に 8 回投与することで P1101 への曝露を最大化した。また、インターフェロンの長期投与に関する莫大な臨床経験に基づき、長期毒性試験成績がないことが安全性上の懸念とはならないと考えられる。

結論として、予定する患者集団に P1101 を使用するに際し、安全性上の懸念を生じる毒性所見は認められなかった。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施しなかったが、ラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験（CTD4.2.3.2.2、CTD4.2.3.2.3）をもとに急性毒性を評価し、ラット及びカニクイザルともに急性毒性症状（一般状態観察における所見）及び死亡例は認められなかった。また、ラットの概略の致死量は 20 mg/kg 超と考えられた。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ラットを用いた単回及び反復皮下投与予備試験（4.2.3.2.2 Study No. 7975-100）

目的：ラットに P1101 を単回又は反復皮下投与し、毒性プロファイルを確認することを当該非 GLP 試験の目的とした。

方法：雌雄各 24 匹の Crl: CD(SD)ラットを 8 群（3 匹/性/群）に割付けた。被験物質及び溶媒を 4 mL/kg の容量、0、0.2、2 及び 20 mg/kg の用量で 1 日目（単回投与試験）並びに 1、4、8 及び 11 日目（反復投与試験）に皮下投与した（表 2.6.6-2 参照）。

表 2.6.6-2 試験群及び用量（Study No. 7975-100）

群	処置	被験物質	用量（mg/kg）	容量（mL/kg）	動物数（匹）
1	単回皮下投与	溶媒*	0	4	雄 3、雌 3
2		P1101	0.2		雄 3、雌 3
3		P1101	2		雄 3、雌 3
4		P1101	20		雄 3、雌 3
5	反復皮下投与 1、4、8 及び 11 日目	溶媒	0		雄 3、雌 3
6		P1101	0.2		雄 3、雌 3
7		P1101	2		雄 3、雌 3
8		P1101	20		雄 3、雌 3

*製剤緩衝液（2.3.P.1.1 参照）

すべての動物について、毎日 2 回死亡の有無及び臨床症状を観察した。馴化期間中、並びに単回投与試験では投与 1、4 及び 7 日目、反復投与試験では投与 1、8 及び 14 日目にすべての動物の体重を測定した。摂餌量は馴化期間中、並びに単回投与試験では 1 日目～7 日目、反復投与試験では 1、8 及び 14 日目に測定した。計画屠殺時に頸静脈から血液学的検査及び生化学的検査用の血液サンプルを採取した。14 日間の試験期間終了時に、すべての動物を安楽致死させ、反復投与試験動物については剖検を行った。

結果：

死亡及び臨床症状：すべての動物は計画屠殺時まで生存した。わずかな臨床症状がみられたが散発的で投与に起因するものではなかった。

体重及び摂餌量：単回投与試験及び反復投与試験のいずれにおいても、意義のある体重又は摂餌量の変化はみられなかった。

血液学的検査及び生化学的検査：単回投与試験動物における臨床検査値はすべての群で類似しており、概して顕著な変化はなかった。すべての投与群の雄で好中球数がわずかに上昇したが、雌動物では認められず、雄の変化に用量反応相関性はなかったことから、明らかに P1101 に起因した所見とは考えられなかった。

反復投与試験動物における臨床検査値もすべての群で類似しており、概して顕著な変化はなか

った。8 群（20,000 µg/kg）の雌動物 1 例にのみ血中トリグリセリド濃度の上昇（298 mg/dL）がみられた。変化は組織や臓器の不全又は障害を示唆するものではなく、また他の動物に同様の影響は認められなかったことから、投与の明らかな影響ではないと考えられた。

剖検所見：剖検所見として、7 群（2,000 µg/kg）の雄 1 例に胃の褪色（不透明）及び肥厚、同群の雌に胃の褪色が認められたのみであった。これらの所見に用量反応相関性はなく、投与に関連するものではなかった。投与部位に肉眼的変化はみられなかった。

結論：P1101 をラットに単回及び反復投与した結果、剖検又は臨検査値への影響はみられなかった。投与群動物の摂餌量は正常であり、投与に起因した臨床症状は認められなかった。結論として、P1101 をラットに単回又は反復皮下投与したときの NOEL は 20,000 µg/kg（最高用量）以上と考えられた。ヒトインターフェロンはマウス及びラットにおいて薬理学的活性を持たないことが知られており、当該予備試験により裏付けられた。

2.6.6.3.2 ラットを用いた 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（4.2.3.2.1 Study No. 511-20060035）

目的：ラットに P1101 を週 1 回 13 週間皮下投与し、毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性を評価すると共に、4 週間の回復期間終了後に投与に関連した影響の回復性、持続性及び遅延性発現の有無を検討することを本試験の目的とした。

方法：雌雄各 50 匹の CD (SD) IGS ラットを、表 2.6.6-3 に示すとおり 4 つの群に割付け、13 週間にわたり 1、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78 及び 85 日目に投与した。群 1（対照群、雌雄各 15 匹）には溶媒のみを皮下投与し、群 2（雌雄各 10 匹）、群 3（雌雄各 10 匹）及び群 4（雌雄各 15 匹）には P1101 をそれぞれ 0.4、1.4 及び 4 mg/kg の用量、4 mL/kg の容量で皮下投与した。群 1（対照群）及び群 4（高用量群）の 5 匹/性/群には、13 週間の投与期間終了後 4 週間の回復期間を設けた。投与量はヒトにおける予定臨床用量（500 µg : 60 kg 体重で 8.3 µg/kg に相当）から決定した。ヒトの 8.3 µg/kg はラットでは 51.46 µg/kg（8.3 µg/kg × 6.2、体表面積変換）に相当し、本試験の 0.4、1.4 及び 4 mg/kg はそれぞれヒト最大用量の 7.8、27 及び 78 倍である。また、投与頻度についてもヒト（2 週又は最長 4 週ごとに 1 回投与）を上回る週 1 回投与を採用した。

表 2.6.6-3 試験群及び用量（Study No. 511-20060035）

群	被験物質	用量（mg/kg）	容量（mL/kg）	投与経路	動物数（匹）
1	溶媒*	0	4	皮下	雄 15、雌 15
2	P1101	0.4			雄 10、雌 10
3	P1101	1.4			雄 10、雌 10
4	P1101	4			雄 15、雌 15

*製剤緩衝液（2.3.P.1.1 参照）

すべての動物について、毎日死亡の有無及び臨床症状を観察した。投与期間前に 1 回、投与開始日（1 日目）、その後は週 1 回体重測定を行った。ケージごと（1 又は 2 匹）の摂餌量を週 1 回測定した。投与期間前及び計画屠殺前に眼科学的検査を実施した。雌動物において剖検前に膣垢標本を採取し性周期を観察した。計画屠殺時に血液学的検査、凝固検査、生化学的検査を実施した。尿検査は、計画屠殺前に代謝ケージを用いて採取した尿を用いて実施した。試験期間終了時に動物を屠殺し、剖検、臓器重量測定及び病理組織学検査を実施した。病理組織学的検査は、1 群及び 4 群のすべての全臓器・組織、並びにすべての肉眼病変について実施した。最終投与日の翌

日（86 日目）に採取した尾静脈血の塗抹標本について、末梢血小核検査を行った。トキシコキネティクス及び免疫原性評価用に別途、各群雌雄各 6 匹（対照群は雌雄各 3 匹）に同様の投与を行い、投与期間前、1、2、3、8、22、50、85、92 及び 120 日目（トキシコキネティクス評価)、並びに投与期間前、22，50、85 及び 120 日目（免疫原性評価）に尾静脈より採血した。

結果：

死亡及び臨床症状：すべての動物が計画屠殺時まで生存した。被験物質に関連した臨床症状は認められなかった。

体重推移：すべての投与群及び対照群の間に体重及び体重増加量（1～87 日目及び回復 1～28 日目）の統計学的有意差は認められなかった。

摂餌量：すべての投与群及び対照群の間に摂餌量の統計学的有意差は認められなかった。

眼科学的検査：低用量群雌 1 例の左眼に角膜混濁がみられたが（87 日目)、前日の自傷によるもので被験物質に関連した変化ではなかった。その他、投与に関連した所見はみられなかった。

血液学的検査及び生化学的検査：回復期間終了時に、高用量群雄で対照群に比べ平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC)、血小板数（PLT）及びアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の減少がみられたが、いずれも背景値内の変動で投与に関連したものではなかった。その他、すべての群間に血液学的検査及び生化学的検査値の統計学的有意差は認められなかった。

尿検査：すべての投与群及び対照群の間に尿検査値の統計学的有意差は認められなかった。

末梢血小核検査：すべての投与群及び対照群の間に小核発現率の統計学的有意差は認められなかった。

剖検及び病理組織学検査：投与期間終了時に低及び中用量群雄、並びに中用量群の雌で対照群と比べ甲状腺（副甲状腺を含む）の体重比相対重量の低値がみられたが、用量相関性や病理組織学的変化を伴わないことから、偶発的で投与に関連したものとは考えられなかった。剖検所見として、対照群を含むすべての群の雌雄動物で投与部位の赤色化が認められた（対照群 19/20 例、低用量群 20/20 例、中用量群 19/20 例、高用量群 19/20 例)。病理組織学的には軽微～中等度の出血及び単核細胞浸潤であった。回復期間終了時に投与部位の肉眼的変化はみられなかったが、病理組織学的に軽微～軽度の単核細胞浸潤が対照群及び高用量群に認められた。その他の臓器・組織に投与に関連した臓器重量の変化、剖検所見、病理組織学的所見は認められなかった。

免疫原性：投与前、投与 22 日、50 日、80 日及び 120 日後の血液サンプルを用いて、抗薬物抗体試験（ADA）を行った。その結果、雄 3 匹（溶媒群 85 日、1.4mg/kg 群 120 日、4mg/k 群 120 日）及び雌 5 匹（1.4mg/kg 群 50 日及び 85 日、4mg/kg 群 120 日 3 匹）に ADA 陽性が確認され、ADA 陽性動物において、P1101 血清薬物濃度が影響された（用量比例関係よりも血清中濃度が低くなる）可能性が示唆された。

トキシコキネティクスについては、雌雄ラットでは、群 1 の雌ラット 1 匹が第 22 日に 46.516 pg/mL を示した以外は、投与前の血液サンプルおよび群 1 のサンプルの結果はすべて検出不能であった。なお、この群 1 の雌ラットの検体を再分析したところ、結果は検出不能であった。

雄ラットでは、群 3 及び群 4 は群 2 と比較して、C_{max} はそれぞれ 2.11 及び 4.08 倍、$AUC_{0\text{-}t}$ は 2.28 及び 4.53 倍、$AUC_{0\text{-}inf}$ は 2.38 及び 5.02 倍であった。

雌ラットでは、群 3 及び群 4 は群 2 と比較して、C_{max} はそれぞれ 2.71 及び 6.36 倍、$AUC_{0\text{-}t}$ t は 2.88 及び 7.11 倍、$AUC_{0\text{-}inf}$ は 2.95 及び 8.03 倍であった。

P1101 の 3 用量（0.4、1.4、4 mg/kg）を投与したときの最終消失半減期は、雄ラットで 44.4～

62.5 時間、雌ラットで 43.6～63.7 時間であった。

結論：P1101 をヒト最大用量の 78 倍の高用量（4 mg/kg）まで週 1 回 13 週間投与した結果、臨床症状、体重、摂餌量、血液学的検査、生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検、病理組織学的検査に被験物質に関連した変化は認められなかった。投与部位に剖検及び病理組織学的所見がみられたが、対照群と比べ程度及び頻度に差はなく、また回復性が認められた。トキシコキネティクスにおいて、C_{max}、AUC_{0-t} 及び AUC_{0-inf} の値は、群 2 の雌雄間で類似していた。しかし、群 3 及び群 4 の雌ラットにおけるこれらパラメータの値は、雄ラットよりも高かった。

2.6.6.3.3 カニクイザルを用いた漸増用量設定試験及び 7 日間反復投与毒性試験（4.2.3.2.3 Study No. 7975-102）

目的：カニクイザルに P1101 を漸増用量皮下投与し、毒性を評価すると共に最大耐量（MTD）を求めることを当該非 GLP 試験の目的とした。また、本試験のフェーズ II において、反復投与の影響を評価した。本試験で得られた成績を用いて、以降の GLP 試験の用量を設定した。

方法：雌雄各 4 匹（計 8 匹）のカニクイザルを用いた。フェーズ I では、雌雄各 1 匹に 2 mL/kg の容量で、0.675 mg/kg（1 日目）、2 mg/kg（5 日目）及び 6.5 mg/kg（9 日目）の漸増用量の P1101 を皮下投与した。フェーズ II では、各群雌雄 1 匹のカニクイザルを 3 つの群に割付けた。それぞれの群に 2 mL/kg の容量で、溶媒、2 mg/kg 又は 6.75 mg/kg の P1101 を 1、4、8 及び 11 日目に皮下投与した（表 2.6.6-5 参照）。なお、本試験は当初 7 日間の反復投与毒性試験として計画されたが、プロトコールの変更が行われ、1、4、8 及び 11 日目に投与を行う反復投与試験に変更された。

表 2.6.6-4 試験群及び用量（Study No. 7975-102）

群	被験物質	用量（mg/kg）	容量（mL/kg）	投与経路/スケジュール	動物数（匹）
1	P1101	0.675/2/ 6.75	2	皮下/用量漸増	雄 1、雌 1
2	溶媒*	0		皮下/反復投与	雄 1、雌 1
3	P1101	2			雄 1、雌 1
4	P1101	6.75			雄 1、雌 1

*製剤緩衝液（2.3.P.1.1 参照）

動物は 24 日間（群 1）又は 15 日間（群 2～4）、本試験に使用した。すべての動物について、毎日 2 回、死亡の有無及び臨床症状を観察した。摂餌量（定性的評価）及び体重は、群 1 では投与期間前に 1 回、並びに 1、5、9 日目及び屠殺日、群 2～4 では 1 日目及びその後は週 1 回測定した。トキシコキネティクス分析用血液サンプルを 1 日目及び 11 日目の投与前、並びに投与後 2、4、8、24、48、72 及び 96 時間後に採取した。血液学的検査及び生化学的検査用サンプルは、群 1 では投与期間前並びに各投与後 48 時間に、群 2～4 では投与期間前並びに 6 日目及び 13 日目に採取した。試験期間終了時に群 2～4 の動物を屠殺し、剖検及び臓器重量測定を実施した。

結果：

死亡及び臨床症状：すべての動物が計画屠殺時まで生存した。臨床症状として、眼瞼下垂及び液状便が群 1 に認められたが、散発的であり P1101 投与との関連はないと考えられた。群 2～4 にみられた臨床症状は液状/非形状便であった。溶媒投与動物（群 2）にもこれらの症状はみられたことから、P1101 投与に関連した所見ではないと考えられた。

摂餌量：P1101 を投与したすべての動物で定性的に摂餌量の減少が認められた。

体重推移：群 1 における体重の変動は顕著でなかった。群 2 及び 3 の雄動物で 1 日目の体重に

比べ約 12%の減少がみられた。同群の雌にはこのような変化はなかった。

血液学的検査及び生化学的検査：群 1 の雌 1 例（I62504）において赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット値が軽度に、しかし用量の漸増に従い次第に減少した。同じ動物で、網状赤血球値が当初減少したがその後 P1101 の用量増加と共に次第に 7 及び 11 日目に増加した。また、リンパ球数も 6.75 mg/kg 投与後 11 日目に減少した。これらの所見の投与との関連性は不確かであるが、否定できない。同群の雄動物にはいずれの変化も認められなかった。同群の両動物において、3 日目から総蛋白、アルブミン、グロブリン及びトリグリセリドの低値がみられ、摂餌量の減少と関連する可能性が考えられた。

反復投与群において、P1101 投与動物で 6 日目及び 13 日目に網状赤血球値の中等度から顕著な減少が認められた。また、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の延長が P1101 投与動物にみられたが、当該所見の有害性を示唆する出血や斑紋は認められなかった。これらすべての影響は投与に関連したものと考えられた。雌雄動物で 6 日目及び 13 日目に好中球数の低値がみられた。減少は投与に関連した変化であったが、有害性はないと考えられた。2 mg/kg 及び 6.75 mg/kg の P1101 を投与した動物に総蛋白、アルブミン、グロブリン、カルシウム、無機リンの血清中濃度の減少、並びに 6.75 mg/kg の動物にアルカリフォスファターゼ活性の減少が認められた。これらの減少は体重及び摂餌量の減少の結果である可能性が高いと考えられた。

尿検査：群 1 において、尿検査結果に顕著な変化はなく、投与に関連した影響は認められなかった。

反復投与群の雄動物において、ケトン尿がみられた（2 mg/kg 群で 13 日目；6.75 mg/kg 群で 6 日目及び 13 日目）。ケトン尿は雌 2 例の投与前サンプルにも検出されたことから、P1101 投与との関連性は不確かであった。

剖検：剖検時に肉眼的所見又は臓器重量の変化は認められなかった。

トキシコキネティクス：2 mg/kg 又は 6.75 mg/kg の皮下投与後、1 日目から 3 日目まで血清 P1101 濃度は雌雄動物共に増加し、3 日目及び 4 日目の間プラトーなままであった。最終投与（11 日目）後、血清 P1101 濃度は雌雄共に 11 日目から 12 日目まで同様であり、13 日目以降減少した。

結論：P1101 を雌雄カニクイザルに 2 週間に 4 回断続的に 1 日 1 回皮下投与したときの NOAEL は、2 mg/kg 及び 6.75 mg/kg でみられた平均体重（雄）及び網状赤血球数の投与関連性の減少に基づき、2 mg/kg 未満であった。本試験において MTD は達成されなかった。

2.6.6.3.4 カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（4.2.3.2.4 Study No. 7975-101）

目的：カニクイザルに P1101 を週 2 回 4 週間皮下投与し、毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性を評価すると共に、4 週間の回復期間終了後に投与に関連した影響の回復性、持続性及び遅延性発現の有無を検討することを本試験の目的とした。

方法：雌雄各 16 匹（計 32 匹）のカニクイザルを、表 2.6.6-6 に示すとおり 4 つの群に割付け、4 週間にわたり 1、4、8、11、15、18、22 及び 24 日目に投与した。群 1（対照群、雌雄各 5 匹）には溶媒のみを皮下投与し、群 2（雌雄各 3 匹）、群 3（雌雄各 3 匹）及び群 4（雌雄各 5 匹）には P1101 をそれぞれ 0.675、2 及び 6.75 mg/kg の用量、2 mL/kg の容量で皮下投与した。

表 2.6.6-5 試験群及び用量（Study No. 7975-101）

群	被験物質	用量（mg/kg）	容量（mL/kg）	投与経路	動物数（匹）
1	溶媒 a)	0*	2	皮下	雄 5、雌 5
2	P1101	0.675			雄 3、雌 3
3	P1101	2			雄 3、雌 3
4	P1101	6.75			雄 5、雌 5

*製剤緩衝液（2.3.P.1.1 参照）

群 1（対照群）及び群 4（高用量群）の 2 匹/性/群には、4 週間の投与期間終了後（最終投与後）4 週間の回復期間を設けた。すべての動物について、毎日 2 回、死亡の有無及び症状を観察した。摂餌量を毎日定性的に評価した。体重は投与期間前、投与期間の 1 日目、その後は毎週測定した。投与部位の皮膚刺激性を、毎投与日の投与後 2～4 時間に評価した。眼科学的検査を投与期間前及び投与期間の最終週にそれぞれ 1 回実施した。心電図検査は投与期間前に 1 回及び投与期間の 24 日目に実施した。1 日目及び 24 日目それぞれの投与前、並びに投与後 4、6、8、12、24、48 及び 72 時間にトキシコキネティクス用血液サンプルを採取した。免疫原性分析用血清は、投与期間前、並びに投与期間 2 週目、回復期間 2 週目及び各計画屠殺時に採取した。投与期間前、並びに投与期間 2 週目及び計画屠殺時に、血液学的検査、凝固検査、生化学的検査及び尿検査を実施した。試験期間終了時に動物を屠殺し、剖検、臓器重量測定及び病理組織学検査を実施した。

トキシコキネティクス及び免疫原性検査は非 GLP 条件下で実施したが、両検査成績の質又は試験全体の妥当性に影響を及ぼすものではないと考えられた。

結果：

死亡及び臨床症状：すべての動物が計画屠殺時まで生存した。群 4 の雄に非形状便（5/5 例）又は液状便（2/5 例）がみられた。回復期間中に異常は認められなかった。

摂餌量：すべての P1101 投与群で定性的評価による摂餌量の低下がみられ、頻度は高用量群で最も高かった。回復期間期間中の摂餌量に異常は認められなかった。

体重推移：投与期間終了時に 2 及び 6.75 mg/kg 群の雄で、軽度であるが投与に関連した体重の減少がみられた。6.75 mg/kg 群の雄では、15 日目に対照群に比べ 11.5%の減少が認められたが、減少は 29 日目に 8%まで回復した。体重の変化は有害なものではないと考えられた。回復期間中、異常は認められなかった。

眼科学的検査：投与に関連した所見はみられなかった。

心電図検査：投与に関連した変化はみられなかった。

血液学的検査及び生化学的検査：複数回血液採取の影響で、被験物質投与群のみならず対照群にも一貫して軽度の赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット値の減少がみられた。しかしながら、13 日目及び 29 日目の変化の程度は 2 及び 6.75 mg/kg 群でわずかに高かった。群 4 で血小板数の軽度減少がみられ、群 2 及び 3 の動物ではその程度は低かった。APTT の有意な延長がすべての投与群で 13 日目にみられたが、投与期間 29 日目までに回復した。血液学的検査におけるすべての変化は回復期間終了時に完全に回復した。網状赤血球数の減少が群 2～4 で投与期間 13 日目にみられたが、29 日目までに回復又は対照群の値を上回った。更に、回復期間 30 日目までにすべてのパラメータが被験物質投与群と対照群で同等となった。

群 2～4 で 13 日目に総蛋白、アルブミン、カルシウム及び無機リン値が投与に関連して軽度に減少したが、群 2 及び 4 の雌で軽度の減少が持続したのを除き、投与期間 29 日目までに再度増加した。6.75 mg/kg 群動物でアルカリフォスファターゼ値の軽度低下が 13 日目に認められた。値は投与期間 29 日目までに増加したが、対照群に比べ依然わずかに低値であった。回復期間終了時にはすべてのパラメータが被験物質投与群と対照群で同等であった。

尿検査:すべての投与群の雄並びに、低及び高用量群の雌で 9 日目にケトン尿が認められ、P1101 投与の一過性の影響と考えられた。

剖検及び病理組織学検査：剖検において肉眼的所見又は臓器重量の変化は認められなかった。肉眼的に明らかな皮膚刺激性はみられなかったが、病理組織学検査においてすべての投与群の投与部位で、P1101 投与に起因する免疫細胞浸潤（多くはリンパ球及びマクロファージの血管周囲浸潤）が認められた。細胞浸潤は回復期間終了時に回復又は軽微で回復傾向がみられた。

トキシコキネティクス：血清中トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6-7 に示す。最初の皮下投与（1 日目）後の全身曝露量は雌雄動物間で類似していた。C_{max} 及び AUC は用量に比例して線形性に増加した。投与期間 24 日目以降、PK パラメータ（C_{max}、T_{max} 及び AUC）は減少し、中和抗体の産生が示唆された。最終投与（24 日目）後、血清中 P1101 濃度が、0.675 mg/kg 群の雄 1 例及び 6.75 mg/kg 群の雌 1 例を除き減少し始めたことからも中和抗体の産生が裏付けられた。

表 2.6.6-6　トキシコキネティクス評価の要約（Study No. 7975-101）

採取日	PK パラメータ	用量（mg/kg）					
		0.675		2		6.75	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
1 日目	$AUC_{0\text{-}72h}$ [h•ng/mL]	379403 ± 162352	491057 ± 140308	1687204 ± 674409	1396471 ± 115587	4517087 ± 1068534	4716740 ± 337950
	C_{max} [ng/mL]	6488 ± 2423	8093 ± 2015	28697 ± 13097	23128 ± 2085	82713 ± 18390	81030 ± 4528
	T_{max} [h]	56 ± 14	40 ± 14	40 ± 28	48 ± 24	48 ± 24	34 ± 13
24 日目	$AUC_{0\text{-}72h}$ [h•ng/mL]	80138 ± 121850	3433 ± 5535	37300 ± 45454	17558 ± 13183	789175 ± 588682	2549419 ± 3559568
	C_{max} [ng/mlL]	1618 ± 1769	105 ± 159	1670 ± 2152	694 ± 513	31296 ± 22840	44561 ± 48106
	T_{max} [h]	13 ± 9	10 ± 3	7 ± 1	9 ± 3	12 ± 7	18 ± 9

免疫原性：すべての被験物質投与群で中和抗体の産生が認められた。これらの抗体は P1101 の IFNα-2b を認識し、すべての投与群で最終投与後に明らかな力価の増加がみられた。結果、P1101 の免疫原性が明らかとなった。

結論：P1101 を最高用量の 6.75 mg/kg まで 4 週間投与した結果、臓器重量に変化はなく、剖検

において肉眼的な変化はみられなかった。赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値及び網状赤血球数の減少がみられ、APTT に延長が認められた。生化学的検査における変化として、アルカリフォスファターゼ、総蛋白、アルブミン、カルシウム及び無機リンの減少、並びにケトン尿がみられた。投与に関連したこれらの変化の多くは高用量（6.75 mg/kg）群の雌雄にみられ、29 日間の回復期間終了時までに回復した。病理組織学検査では投与部位に軽微～中等度のリンパ球及びマクロファージの浸潤がみられたのみで、回復期間中に回復又は程度の軽減が認められた。摂餌量、体重及び血液学的検査・生化学的検査における非有害性の投与の影響並びに軽度の臨床症状がみられたのみであったことから、P1101 をカニクイザルに 1 日 1 回、8 回断続的に 4 週間皮下投与し、その後 4 週間回復期間を設けたときの NOAEL は 6.75 mg/kg と判断された。8 回目（24 日目）の投与後に PK パラメータの減少がみられ、中和抗体の産生が示唆された。血清中 P1101 濃度の減少は多くの動物で 5 回目の投与後に認められたことから、中和抗体は 17 日目までには産生されたと考えられた。中和抗体の産生が、当該試験の NOAEL が 2 週間非 GLP に比べて高かったことの理由である可能性が示唆された。

2.6.6.3.5　カニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性試験（4.2.3.2.5 Study No. 44103-08-300）

目的：カニクイザルに P1101 を週 2 回 2 週間皮下投与し、毒性及びトキシコキネティクスを評価すると共に、毒性試験に使用したロットと GMP 臨床ロットを比較することを本試験の目的とした。

方法：雌雄各 9 匹（計 18 匹）のカニクイザルを、表 2.6.6-8 に示すとおり 3 つの群に割付け、1、4、8 及び 11 日目に皮下投与した。群 1（対照群、雌雄各 3 匹）には溶媒のみを投与した。群 2（雌雄各 3 匹）及び群 3（雌雄各 3 匹）にはそれぞれ P1101 の毒性試験ロット及び臨床ロットをいずれも 6.75 mg/kg の用量で投与した。

表 2.6.6-7　試験群及び用量（Study No. 44103-08-300）

群	被験物質	用量（mg/kg）	容量（mL/kg）	投与経路	動物数（匹）
1	溶媒 a)	0	2	皮下	雄 3、雌 3
2	P1101（毒性ロット）b)	6.75			雄 3、雌 3
3	P1101（臨床ロット）c)	6.75			雄 3、雌 3

a) 製剤緩衝液（2.3.P.1.1 参照）
b) DPL-0006-5
c) 0013-3.375

すべての動物について、1 日 2 回、死亡の有無及び症状を観察した。摂餌量を 14 日間毎日定性的に評価した。体重は投与期間前、投与期間の 1 日目、その後は毎週測定した。投与部位の皮膚刺激性を、各投与前及びその後は毎日評価した。

眼科学的検査を投与期間前に 1 回及び投与期間の 13 日目に実施した。心電図検査は投与期間前に 1 回及び投与期間の 14 日目に実施した。血液及び尿サンプルを投与期間前並びに投与期間

の 15 日目に採取した。免疫原性分析用血清は、投与期間前、並びに投与期間の 1、8 及び 15 日目に採取した。中和抗体の測定は非バリデート法を用いて非 GLP 条件下で実施した。試験期間終了時にすべての動物を屠殺し、剖検、臓器重量測定及び病理組織学検査を実施した。

結果：

死亡及び臨床症状：すべての動物が計画屠殺時まで生存した。投与に関連した臨床症状はみられなかった。

体重推移：すべての P1101 群投与動物で軽度の体重減少が認められた。体重減少は摂餌量の減少と相関していた。

摂餌量：両 P1101 群の雌雄（毒性ロット群：3/6 例、臨床ロット群：5/6 例）で、定性的評価による摂餌量の低下が 5 日目からみられた。

血圧：両 P1101 群の雌雄で血圧低下が認められた（毒性ロット群：対照群に比べ 11～23%低下、臨床ロット群：8～27%低下）。

体温：P1101 投与動物で軽度の体温低下が認められた（0.4～1.7°C の低下）。

眼科学的検査：投与に関連した眼への影響はみられなかった。

心電図検査：すべてのパラメータは正常範囲内であった。

血液学的検査及び生化学的検査：群 2 及び群 3 の動物に貧血兆候（赤血球量の減少）が示されたが、いずれの変化にも統計学的に有意差は認められなかった。群 2 及び群 3 の雄、並びに群 3 の雌で白血球数及び好中球数平均値の減少がみられ、群 2 の雌では好塩基球数平均値の有意な増加が認められた。群 2 の雌及び群 3 の雄に血小板数の軽度減少がみられたが、個体間でばらつきがあること、並びに片方の性にのみ変化がみられることから生物学的に意義のあるものではないと考えられた。

また、P1101 投与群で投与に関連した APTT の延長（対照群に比べ 21～45%高値）が認められた。

P1101 投与群で ALT、AST、BUN 及び BUN/C 値の増加、並びに総蛋白、アルブミン、グロブリン及びトリグリセリドの減少がみられた。これらの変化は肝臓及び腎臓機能への投与に関連した影響と考えられたが、関連する組織学的変化は認められなかった。

尿検査：群 2 の雌 2 例及び群 3 の雄 1 例、雌 2 例に認められた尿潜血は、P1101 投与に起因するものと考えられた。

剖検：P1101 投与動物の剖検において、胸腺重量の減少及び相関する組織学的変化としてびまん性萎縮がみられた。対照群及び投与群で投与部位周囲の皮下赤色化、並びに相関する組織学的変化として出血が認められ、投与手技に関連した変化と考えられた。その他の剖検所見は散発的であり、被験物質に起因するものではないと考えられた。

病理組織学検査：群 2（雄 2/3 例、雌 1/3 例）及び群 3（雄 3/3 例）で脳に単核免疫細胞の血管周囲浸潤が認められ、対照群動物にはこのような浸潤像はみられなかったことから、投与に関連した影響と考えられた。同様に、肺に混合細胞炎症が P1101 投与動物にのみみられ、対照群には認められなかったことから、この所見も被験物質に起因するものと考えられた。胸腺の萎縮は対照群にも認められたが、被験物質投与動物では所見の程度が増加していた。

トキシコキネティクス：カニクイザルに皮下投与後の全身曝露量は、毒性ロット群と臨床ロット群間で類似していた（表 2.6.6-9 参照）。反復投与に伴い、13 日目まで蓄積が認められ、多くの動物で血清中 P1101 濃度の急激な減少がみられた。

表 2.6.6-8　トキシコキネティクス評価の要約（Study No. 44103-08-300）

採取日	用量（mg/kg）	ロット No.	AUC_{last} [h•μg/mL]		C_{max} [μg/mL]	
			雄	雌	雄	雌
1 日目	6.75	DPL-0006-5	3237.35 ± 881.29	NA	62.68 ± 19.79	NA
		0013-3.375	4090.96 ± 517.05	NA	75.29 ± 16.40	NA
11 日目	6.75	DPL-0006-5	10364.80 ± 3957.96	3635.56 ± 1116.34	161.12 ± 35.52	67.73 ± 18.01
		0013-3.375	8949.93 ± 2420.59	4281.84 ± 523.89	142.20 ± 25.62	66.43 ± 8.24

NA: Not applicable

免疫原性：毒性ロット及び臨床ロットのいずれも反復投与した結果、ほとんどのカニクイザルに抗薬物抗体反応が認められた。しかしながら、非バリデート細胞アッセイにおいて薬物中和抗体は検出されなかった。

結論：P1101 の毒性ロット又は臨床ロットを 6.75 mg/kg の用量で、カニクイザルに週 2 回 2 週間皮下投与した結果、平均体重の減少、摂餌量の減少、血圧低下及び体温低下、並びに血液学的及び生化学的検査パラメータの変化、胸腺重量の減少及び病理組織学的所見がみられた。毒性ロット及び臨床ロット間に、意義のある投与に関連した影響の差は認められなかった。

2.6.6.3.6　カニクイザルを用いた 2 つのロットの 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性比較試験（4.2.3.2.6 Study No. 7975-107）

目的：カニクイザルに P1101 の異なる 2 つのロットを週 2 回 2 週間皮下投与し、毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性を評価することを本試験の目的とした。

方法：雌雄各 9 匹（計 18 匹）のカニクイザルを、表 2.6.6-10 に示すとおり 3 つの群に割付け、1、4、8 及び 11 日目に皮下投与した。群 1（対照群、雌雄各 3 匹）には溶媒のみを投与した。群 2（雌雄各 3 匹）及び群 3（雌雄各 3 匹）にはそれぞれ P1101 の毒性試験ロット及び臨床ロットをいずれも 0.675 mg/kg の用量で投与した。

表 2.6.6-9　試験群及び用量（Study No. 7975-107）

群	被験物質	用量（mg/kg）	容量（mL/kg）	投与経路	動物数（匹）
1	溶媒 [a]	0	2	皮下	雄 3、雌 3
2	P1101（毒性ロット）[b]	0.675			雄 3、雌 3
3	P1101（臨床ロット）[c]	0.675			雄 3、雌 3

[a] 製剤緩衝液（2.3.P.1.1 参照）
[b] DPL-0006-5
[c] 08-DPL-B001

すべての動物について 1 日 2 回、死亡の有無及び症状を観察した。摂餌量を 14 日間毎日定性的に評価した。体重は投与期間前、投与期間の 1 日目、その後は毎週測定した。投与部位の皮膚刺激性を、投与後 2～4 時間に評価した。

眼科学的検査を投与期間前に 1 回及び投与期間の 13 日目に実施した。心電図検査は投与期間前に 1 回及び投与期間の 2 日目及び 12 日目に実施した。血液学的検査及び生化学的検査用の血

液及び尿サンプルを投与期間前並びに投与期間の 14 日目に採取した。トキシコキネティクス評価用の血液サンプルは、1 日目及び 11 日目の投与前及び投与後約 8、12、24、48 及び 72 時間、並びに最終投与後 96 時間に採取した。免疫原性分析用血清は、投与期間前、並びに屠殺前 2 日以内に採取した。試験期間終了時に動物を屠殺し、剖検、臓器重量測定及び病理組織学検査を実施した。

トキシコキネティクス及び免疫原性評価は非 GLP 条件下で実施したが、両検査成績の質又は試験全体の妥当性に影響を及ぼすものではないと考えられた。

結果：

死亡及び臨床症状：すべての動物が計画屠殺時まで生存した。投与に関連した臨床症状はみられなかった。発赤がわずかの頻度でみられたが、投与手技によるものであり、被験物質に起因する変化ではないと考えられた。

摂餌量：両被験物質投与群で対照群に比べ、定性的評価による摂餌量の低下がみられた。

体重推移：群 3 の雌で 1 日目に比較し、軽度の体重減少（0.1 kg 又は 4～5%）がみられたが、毒性学的に意義のあるものとは考えられなかった。

心電図検査：投与に関連した影響は認められなかった。

眼科学的検査： 投与に関連した影響は認められなかった。

血液学的検査及び生化学的検査：被験物質に関連した影響として両投与群の雌雄に中等度の網状赤血球数の減少、並びに赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット値の軽度減少がみられた。また、白血球数、リンパ球数及び好酸球数の軽度減少、並びに好中球数（雄のみ）の減少が両投与群の雌雄に認められた。両投与群の雄で血小板数の軽度減少及び APTT の延長がみられたが、投与との関連性は不確かであった。

生化学的検査パラメータの変化として、14 日目に対照群又は投与期間前の値に比べて、総蛋白、アルブミン、カルシウム及び無機リン値の軽度減少がみられたが、被験物質との関連性は不明であった。また、雄にアルカリフォスファターゼの中等度減少が認められたが、投与に関連した影響であるか不明であった。

尿検査：投与に関連した影響はみられなかった。

剖検：群 2 の雄で肝臓の対体重相対重量の増加、及び甲状腺の絶対重量及び対体重相対重量の減少が認められた。また、群 2 の雌で肺の絶対重量減少がみられた。相関する組織学的所見はみられず、これらの変化は被験物質投与に起因したものではないと考えられた。

トキシコキネティクス：P1101 を皮下投与したときの全身曝露量は、ロット間でおおむね類似していた（表 2.6.6-11 参照）。反復投与に伴い、P1101 の蓄積が認められた。

表 2.6.6-10　トキシコキネティクス評価の要約（Study No. 7975-107）

採取日	用　量（mg/kg）	ロット No.	AUC_{last} [h•μg/mL]		C_{max} [μg/mL]	
			雄	雌	雄	雌
1 日目	0.675	DPL-0006-5	684.26 ± 198.55	431.30 ± 27.10	13.34 ± 5.20	7.02 ± 0.30
		08-DPL- B001	778.67 ± 94.50	545.68 ± 89.99	15.13 ± 1.59	9.46 ± 1.56
11 日目	0.675	DPL-0006-5	1418.32 ± 223.69	1246.81 ± 595.89	18.06 ± 2.49	20.20 ± 2.59
		08-DPL- B001	1613.93 ± 130.33	1844.03 ± 258.86	25.71 ± 2.81	26.05 ± 0.88

免疫原性：群 2 の雌 1 例で 4 回目の投与後、抗 P1101 抗体の産生が認められた。他のすべての

動物では抗体産生はみられなかった。

結論：P1101 誘発性の変化が両ロットにみられた。2 つのロットの影響に軽度の差が認められたが、毒性学的に重要な又は意味のある差ではなかった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（4.2.3.3.1.1 Study No. 7975-104）

目的：ヒスチジン要求性ネズミチフス菌株及びトリプトファン要求性大腸菌株を用いてラット肝臓代謝活性化系の存在下及び非存在下で、P1101 の復帰突然変異誘発性を評価することを、当該 GLP 試験（OECD ガイドライン 471 準拠）の目的とした。

方法：本試験はプレート法を用いて 3 回繰り返し実施した。ヒスチジン要求性ネズミチフス菌の 4 菌株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及びトリプトファン要求性大腸菌の 1 菌株（WP2*uvr*A）を、Aroclor ™ 誘発ラット肝臓 S9 分画（S9 mix）による代謝活性化系の存在下及び非存在下、P1101 で処理した。TA100 株及び WP2*uvr*A 株を用いて 6.67～5000 µg/plate の 10 濃度で用量設定試験を実施した。変異原性試験は、すべての試験菌株を用いて 33,3、100、333、1000、3330 及び 5000 µg/plate の濃度で S9 mix 代謝活性化系の存在下又は非存在下で実施した。溶媒及び陽性対照物質も同様に処理した。プレートを 37±2°C で 52±4 時間インキュベートし、自動コロニーカウンター及び/又は手動でコロニー数を計数した。

結果：最高濃度（5000 µg/plate）まで被験物質の析出又は細胞毒性の兆候は認められなかった。数種の菌株で対照群値が許容範囲を外れたため、主変異原性試験を 2 回繰り返し実施したが、当該試験の妥当性への影響はないと考えられた。

結果、本試験条件下で P1101 を 5000 µg/plate の濃度まで処理した結果、S9 mix 代謝活性化系の存在下又は非存在下に関わらず復帰コロニー数の増加は認められなかった。

結論：本試験のいずれの条件下においても、P1101 に変異原性はみられなかった。

2.6.6.4.2 チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた染色体異常試験（4.2.3.3.1.2 Study No. 7975-105）

目的：チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いてラット肝臓代謝活性化系の存在下及び非存在下で、P1101 の染色体異常誘発性を評価することを、当該 GLP 試験（OECD ガイドライン 473 準拠）の目的とした。

方法：最初の用量設定試験及び確認試験に使用した被験物質溶液の調製過誤が認められたため、正しい濃度の被験物質を用いて再度試験を実施した。以下に、妥当な試験についてのみ結果を示す。

用量設定試験で、CHO 細胞を Aroclor ™ 誘発ラット肝臓 S9 分画（S9 mix）による代謝活性化系の存在下及び非存在下、P1101 の漸増濃度（199～1590 µg/mL）で 3 時間培養し、処理開始後約 20 時間に細胞を採取した。確認試験では、細胞を S9 mix の非存在下で 6.25～1590 µg/mL の範囲の濃度の P1101 と共に 20 時間、S9 mix の存在下では 199～1590 µg/mL の範囲の濃度の P1101 と共に 3 時間培養した。いずれの培養においても、2 時間コルセミドで処理した後、処理開始から 20 時間後に細胞を採取し、核型を評価した。溶媒及び陽性対照物質も同様に処理した。

結果：用量設定試験（非代謝活性化）で、199、398 及び 795 µg/mL の濃度で処理した細胞につ

いて染色体異常を評価した。795 μg/mL で分裂指数の 53%減少がみられた。染色体異常や倍数性の有意な増加は認められなかった。199 及び 398 μg/mL で対照群に比べ核内倍加の増加がみられたが、背景値内であり、生物学的な重要性はないと考えられた。代謝活性化の存在下では、596、795 及び 1190 μg/mL の濃度で処理した細胞について染色体異常を評価した結果、最高濃度で分裂指数が 31%減少した。1190 μg/mL の P1101 で処理した細胞で、対照群に比べ染色体異常の有意な増加（異常細胞率：1190 μg/mL 8% vs 対照群 2%）がみられた。核内倍加の有意な増加がみられたが、背景値内であり、生物学的な重要性はないと考えられた。倍数性の変化は認められなかった。

確認試験（非代謝活性化）では、最高濃度の 50 μg/mL（分裂指数 44%減少）まで染色体異常、倍数性又は核内倍加を有する細胞の増加はみられなかった。

代謝活性化条件下の確認試験において、溶媒対照群（異常細胞率：1.5%）に比べ、795 μg/mL（異常細胞率：23.3%）及び 1190 μg/mL（異常細胞率：17.0%）で染色体異常を有する細胞率の有意な増加が認められた。これらの濃度ではコンフルエントの低下が明らかであったことから、観察された染色体異常は細胞毒性に関連する可能性が考えられた。

陽性対照群及び溶媒対照群の値は背景値内であった。

結論：代謝活性化の非存在下では、短期又は長期インキュベーションのいずれにおいても染色体異常頻度の増加はみられなかった。しかしながら、代謝活性化の存在下では 795 及び 1190 μg/mL の高濃度で染色体異常発現率のわずかな増加が認められた。タンパク質は代謝活性化に用いる CYP450 酵素ではなく、プロテアーゼによって代謝されることから、代謝活性化条件下での陽性反応は擬陽性の可能性が高いと考えられる。更に、ICH S6 (R1)において、大量のペプチドや蛋白で処置した場合、解釈不能な結果がもたらされる可能性を述べている。P1101 は DNA や他の染色体物質と直接的に相互反応したいと考えられ、実際、IFNα-2b 製剤及びペグ IFN 製剤には一貫して遺伝毒性や染色体異常誘発性は認められていない。以上のことから、代謝活性化の存在下の高濃度でみられた染色体異常発現率のわずかな増加は、臨床的に重要なものではないと考えられた。

2.6.6.4.3 ラットを用いた 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（4.2.3.2.1 Study No. 511-20060035）

目的：ラットに P1101 を週 1 回 13 週間皮下投与し、毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性を評価すると共に、本試験における末梢血小核検査にて P1101 投与群及び対照群の小核発現率を検討した。

方法：雌雄各 50 匹の CD (SD) IGS ラットを、4 つの群に割付け、13 週間にわたり 1、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78 及び 85 日目に投与した。群 1（対照群、雌雄各 15 匹）には溶媒のみを皮下投与し、群 2（雌雄各 10 匹）、群 3（雌雄各 10 匹）及び群 4（雌雄各 15 匹）には P1101 をそれぞれ 0.4、1.4 及び 4 mg/kg の用量、4 mL/kg の容量で皮下投与した。群 1（対照群）及び群 4（高用量群）の 5 匹/性/群には、13 週間の投与期間終了後 4 週間の回復期間を設けた。投与量はヒトにおける予定臨床用量（500 μg：60 kg 体重で 8.3 μg/kg に相当）から決定した。ヒトの 8.3 μg/kg はラットでは 51.46 μg/kg（8.3 μg/kg × 6.2、体表面積変換）に相当し、本試験の 0.4、1.4 及び 4 mg/kg はそれぞれヒト最大用量の 7.8、27 及び 78 倍である。また、投与頻度についてもヒト（2 週又は最長 4 週ごとに 1 回投与）を上回る週 1 回投与を採用した。

最終投与日の翌日（86 日目）に採取した尾静脈血の塗抹標本について、末梢血小核検査を行った。小核発現率は、赤血球 2000 個中の多染性赤血球（PCE）の頻度（PCE%）並びに PCE 4000 個

中の小核を含む PCE 頻度（MN‰PCE）を検討した。

結果:表 2.6.6-12 に示すように 0.4-4 mg/kg 群雌雄ともに対照群と比較して、多染性赤血球（PCE）並びに小核を含む PCE 頻度に統計学的な有意差は認められなかった。

表 2.6.6-12　末梢血小核評価－PCE%及び MN‰$_{PCE}$（Study No. 511-20060035）

性別	パラメータ	小核分析（平均±標準偏差 N=10） 用量（mg/kg）			
		0	0.4	1.4	4
雄	PCE%	2.72 ± 0.99	2.19 ± 0.30	2.22 ± 0.35	2.62 ± 0.79
	MN‰ $_{PCE}$	0.44 ± 0.51	0.29 ± 0.37	0.34 ± 0.36	0.39 ± 0.44
雌	PCE%	2.20 ± 0.73	2.14 ± 0.77	2.25 ± 0.42	2.27 ± 0.33
	MN‰ $_{PCE}$	0.39 ± 0.31	0.24 ± 0.32	0.23 ± 0.25	0.36 ± 0.28

対照群と各群に統計的な有意差はない

結論：P1101 をヒト最大用量の 78 倍の高用量（4 mg/kg）まで週 1 回 13 週間投与した結果、末梢血小核検査において 0.4-4 mg/kg 群雌雄ともに対照群と比較して多染性赤血球（PCE）並びに小核を含む PCE 頻度に投与による影響は認められなかったことから、P1101 の染色体に対する遺伝毒性誘発性はないものと判断した。

2.6.6.5　がん原性試験

がん原性試験は実施しなかった。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1　カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験（4.2.3.5.2.1 Study No. SBL462-004）

目的：妊娠カニクイザルの器官形成期（妊娠 20～48 日）に週 2 回の頻度で P1101 を皮下投与し、親動物及び胚・胎児発生への影響、並びにトキシコキネティクス及び免疫原性を評価することを本試験の目的とした。

方法：PMDA との医薬品安全性相談（令和元年 7 月 18 日）結果に基づき、試験デザインを決定した。妊娠を確認した 36 匹のカニクイザルを、妊娠 18 日目に表 2.6.6-12 に示すとおり 3 つの群（各群 12 匹）に割付け、器官形成期（妊娠 20～48 日）に週 2 回の頻度で 0（溶媒）、0.675 mg/kg 及び 2 mg/kg の用量、1 mL/kg の容量で皮下投与した。投与量は、カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.4、4.2.3.2.4 Study No. 7975-101）の中（2 mg/kg）及び高用量（6.75 mg/kg）において摂餌量、体重及び血液学的検査で非有害性の投与の影響がみられたこと、並びにヒトの曝露量を上回る又は同等の曝露量が期待されることから、2 mg/kg 及び 0.675 mg/kg を選択した。また、投与頻度は、器官形成期に継続的で十分な高血中濃度が期待できる、4 週間反復投与毒性試験と同様の週 2 回投与とした。

表 2.6.6-11　試験群及び用量（Study No. SBL462-004）

群	被験物質	用量（mg/kg）	容量（mL/kg）	投与経路	動物数（匹）
1	溶媒 a)	0	1	皮下	雌 12
2	P1101	0.675			雌 12
3	P1101	2			雌 12

a) 製剤緩衝液（2.3.P.1.1 参照）

親動物について死亡の有無、臨床症状を妊娠 19 日から帝王切開日（又は試験からの除外日）まで 1 日 2 回（投与期間終了後は 1 日 1 回）観察した。妊娠状態及び胚・胎児の生存については、妊娠 25、32、39、46、53、67、81 及び 95 日に塩酸ケタミンによる鎮静下で超音波検査により判断した。体重を妊娠 20 日以降、週 1 回測定した。摂餌量は妊娠 19 日から帝王切開日まで毎日測定した。妊娠 20 日（初回投与日：投与前、投与後 4、8、12、24 及び 72 時間）、34 日（投与前のみ）、48 日（最終投与日：投与前、投与後 4、8、12、24 及び 72 時間）、52 日、80 日及び 100 日（帝王切開日）にトキシコキネティクス用血液サンプルを採取した。免疫原性分析用血液サンプルは、妊娠 20、34、48、52、80 及び 100 日に採取した。

超音波検査で妊娠状態に異常のみられた 9 例（流産 6 例、胚・胎児死亡確認 3 例）については、剖検又は帝王切開を実施せず試験から除外した。その他の全例（27 例）は、妊娠 100 日に塩酸ケタミン筋肉内投与、イソフルラン及び笑気ガス吸入麻酔下で帝王切開を行い、胎児及び胎盤を摘出した後、オキシトシンを筋肉内投与し、切開縫合を行った。動物は安楽死させず試験から除外した。

帝王切開時に摘出した胎児は生死を確認した後、チオペンタールナトリウム静脈内投与による麻酔下で放血安楽死させた。胎盤について重量及び径を測定し、胎児について性別判定、体重測定、外表計測、外表・内臓・骨格検査、臓器重量測定を実施した。

結果：

死亡及び臨床症状：死亡又は臨床症状の異常はみられなかった。

妊娠状態：2 mg/kg 群で 1 例に流産（妊娠 25 日）、2 例に胚死亡（妊娠 39 日）が認められた。0.675 mg/kg では 4 例に流産（妊娠 32 日及び 39 日）、1 例に胚死亡（妊娠 32 日）が認められた。対照群では 1 例に流産（妊娠 25 日）が認められた。

体重推移：対照群と投与群との間に体重の統計学的有意差はみられなかったが、2 mg/kg 群において 4 例の個体別体重が妊娠 20 日（初回投与日）から妊娠 34 日にかけて顕著に減少した（妊娠 34 日の体重は妊娠 20 日の体重に比べ 10.7～17.8%減少）。0.675 mg/kg 群の 2 例でも顕著な体重減少が認められた（妊娠 34 日の体重は妊娠 20 日の体重に比べ 12.3～13.4%減少）。

摂餌量:2 mg/kg 群で妊娠 24～37 日にかけて対照群と比較して有意な摂餌量の減少がみられた。0.675 mg/kg では妊娠 24～25 日、28～29 日及び 32～33 日の摂餌量が有意に低下した。

トキシコキネティクス：血清中トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6-13 に示す。妊娠 20 日（初回投与日）の曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}72h}$）は用量の増加にほぼ相関して増加した。t_{max} 値は 0.675 mg/kg で 64 時間、2 mg/kg で 68 時間であった。反復投与後（妊娠 48 日）の曝露量は両群で妊娠 20 日に比べ低値であった。妊娠 48 日の t_{max} 値は 0.675 mg/kg で 6 時間、2 mg/kg で 10 時間であった。

表 2.6.6-12　トキシコキネティクス評価の要約（Study No. SBL462-004）

採取日	PK パラメータ	用量（mg/kg）	
		0.675	2
妊娠 20 日	$AUC_{0\text{-}72h}$ [h•μg/mL]	499 ± 125	1750 ± 290
	C_{max} [μg/mL]	8.54 ± 1.97	29.8 ± 5.6
	T_{max} [h]	64 ± 19	68 ± 14
妊娠 48 日	$AUC_{0\text{-}72h}$ [h•μg/mL]	2.86 ± 3.81	463 ± 1282
	C_{max} [μg/mlL]	0.220 ± 0.271	7.97 ± 19.57
	T_{max} [h]	6 ± 2	10 ± 5

免疫原性：0.675 mg/kg 群の 7/7 例で妊娠 34 日又は 48 日に、2 mg/kg 群の 7/9 例で妊娠 48 日に抗薬物抗体が検出された。

帝王切開：妊娠 100 日の帝王切開で摘出した胎児はすべて生存していた。胎児数は対照群、0.675 mg/kg 群及び 2 mg/kg 群でそれぞれ 11 匹（雄 7 匹、雌 4 匹）、7 匹（雄 5 匹、雌 2 匹）及び 9 匹（雄 5 匹、雌 4 匹）であった。胎児体重、胎児臓器重量及び胎盤重量に被験物質に関連した変化は認められなかった。2 mg/kg 群で対照群と比較し精巣重量の低値がみられたが、個別値は背景値の範囲内であり、被験物質に関連した変化とは考えられなかった。

胎児外表及び胎盤検査：胎児の外表に異常は認められなかった。癒着胎盤が 2 mg/kg 群の親動物 1 例に、単一胎盤が 0.675 mg/kg 群の親動物 4 例にみられたが、それぞれ対照群の親動物 3 及び 2 例にもみられ、背景値にも認められる所見であることから、被験物質に関連した変化とは考えられなかった。外表及び胎盤計測パラメータ、並びに羊水量に対照群と比べ有意差は認められなかった。

内臓検査：いずれの胎児にも内臓異常は認められなかった。内臓変異として胸腺頸部残留が 2 mg/kg 群の胎児 1 例にみられたが、頻度（11.1%）に対照群との間で有意差はなく、また背景値所見であることから、被験物質に関連した変化とは考えられなかった。0.675 mg/kg 群及び対照群に内臓変異はみられなかった。

骨格検査：いずれの胎児にも骨格異常は認められなかった。骨格変異として短小過剰肋骨が 2 mg/kg 群の胎児 1 例にみられたが、対照群にも完全又は短小過剰肋骨が胎児 5 例にみられ、頻度（11.1%）に対照群との間で有意差はなく、また背景値所見であることから、被験物質に関連した変化とは考えられなかった。0.675 mg/kg 群に骨格変異はみられなかった。椎体数又は骨長に対照群と投与群間で被験物質に関連した変化はみられなかった。2 mg/kg 群で尺骨及び腓骨が対照群に比べ有意に長かったが、個別値は背景値の範囲内であり、他の骨長に有意な差はなかったことから、被験物質に関連した変化とは考えられなかった。

結論：妊娠カニクイザルの器官形成期（妊娠 20～48 日）に週 2 回の頻度で P1101 を皮下投与した結果、摂餌量及び体重減少、並びに流産及び胚・胎児死亡が 0.675 mg/kg 及び 2 mg/kg で認められたことから、親動物の一般毒性及び生殖機能に対する NOAEL は 0.67 mg/kg 未満と判断された。胎児の生存、発生及び異常発現頻度に被験物質に関連した変化はみられなかったことから、胎児に対する NOAEL は 2 mg/kg と判断された。胎児の NOAEL における妊娠 48 日目の親動物の C_{max} は 7.97 μg/mL、$AUC_{0\text{-}72h}$ は 463 μg·h/mL であった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

P1101 について単独の局所刺激性試験は実施しなかった。前述の反復投与毒性試験（4.2.3.2.1 Study No. 511-20060035、4.2.3.2.4 Study No.7975-101、4.2.3.2.5 Study No.44103-08-300 及び 4.2.3.2.6 Study No.7975-107）で局所刺激性を評価した。ラット及びカニクイザルを用いた反復皮下投与毒性試験において、軽度の刺激反応が本薬群で注射部位に認められたが、これは製剤緩衝液によるものと考えられた。

2.6.6.8 その他の毒性試験

その他の毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.9 考察及び結論

P1101 の安全性を検討するために、*in vivo* 毒性試験及び *in vitro* 遺伝毒性試験を実施した。当初、ラットを用いて用量設定試験を実施したが、げっ歯類はヒト IFNα-2b の生物学的活性が認められないことから、その後の試験は実施しなかった。しかしながら、PMDA との医薬品安全性相談（令和元年 7 月 18 日）において、ペグ部分は既存のインターフェロン α-2b 製剤と異なるため毒性評価が必要との指摘を受け、ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験を実施した。

ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験では、P1101 をヒト最大用量の 78 倍の高用量（4 mg/kg）まで週 1 回 13 週間投与した結果、臨床症状、体重、摂餌量、血液学的検査、生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検、病理組織学的検査において、新規のペグ部分を含め被験物質に関連した変化は認められなかった。投与部位に剖検及び病理組織学的所見がみられたが、溶媒対照群と比べ程度及び頻度に差はなく、また回復性が認められた。本試験における NOAEL は 4 mg/kg と判断された。

重要な 4 週間反復投与毒性試験でカニクイザルに 8 回断続的に皮下投与した結果、NOAEL は 6.75 mg/kg であった。投与期間中、被験物質への曝露量は液性免疫反応に影響を受けず、また雌雄間で類似していた。最終投与後、C_{max} 及び AUC などの PK パラメータの減少がみられ、抗薬物抗体及び中和抗体の産生と相関していた。

カニクイザルを用いた用量設定試験及び 4 週間反復投与毒性試験における NOAEL（それぞれ 2 mg/kg 及び 6.75 mg/kg）は、ヒトの最大用量（540 µg：70 kg 体重で 7.7 µg/kg に相当）に対して適切な安全域が確保できる。低い方の NOAEL である 2 mg/kg を採用した場合、ヒトの 645 µg/kg に相当（変換係数 3.1）し、ヒト最大用量の 7.7 µg/kg に対して約 80 倍の安全域が設定される。また、重要な 4 週間反復投与毒性試験の NOAEL（6.75 mg/kg）における曝露量（AUC）を、ヒトに適用した最大用量 540 µg（Study No. P1101-2010；PEGINVERA-PV Study）における暴露量と比較すると、曝露量比（MoE）は雄カニクイザルで 935 倍以上、雌で 3020 倍以上であり、ヒトの曝露量を大きく上回った。カニクイザル（6.75 mg/kg）において確認された最大血清濃度は、ヒト（540 µg）の最大血清濃度の 643 倍（雄）及び 916 倍（雌）であった。

重要な毒性試験における投与に関連した変化は、有害なものではなく、可逆性であった。最も顕著な影響として、食欲衰退、軽度の体重減少、赤血球量の減少傾向、血小板数減少、一過性のケトン尿（雄）及び投与部位に免疫細胞浸潤がみられた。

ロット比較試験でみられた影響は、4.2.3.2.5 Study No. 44103-08-300 でみられたいくつかの特記すべき所見を除き、総じて重要な試験と類似していた。4.2.3.2.5 Study No. 44103-08-300 では、P1101

の投与により血圧及び体温の低下がみられた。また、剖検で胸腺重量の減少が認められ、組織学的なびまん性萎縮と相関していた。病理組織学的検査で、脳に単核免疫細胞の血管周囲浸潤、また肺に混合細胞浸潤が認められ、対照群動物にはみられなかったことから、投与に関連した影響と考えられた。ALT、AST、BUN 及び BUN/C 値の増加、並びに総蛋白、アルブミン、グロブリン及びトリグリセリドの減少がみられ、これらの変化は肝臓及び腎臓機能への投与に関連した影響と考えられたが、関連する組織学的変化は認められなかった。

重要な毒性試験で用いたロットと GMP 臨床ロットの間に、意義のあるカニクイザルへの影響の差は認められなかった。また、いずれの毒性試験においても、心電図検査及び眼科学的検査で投与に起因する異常はみられなかった。

毒性試験の一部として局所刺激性を評価した結果、P1101 の良好な忍容性が確認された。ラット 13 週間反復投与毒性試験で投与部位に剖検及び病理組織学的所見がみられたが、対照群と比べ程度及び頻度に差はなく、また回復性が認められた。カニクイザルを用いた試験では、軽度の発赤がわずかの頻度でみられたが、対照群にも認められた（4.2.3.2.5 Study No. 44103-08-300）ことから、投与手技に関連した所見と考えられた。投与期間終了時、投与部位にマクロファージ及びリンパ球の血管周囲浸潤がみられたが、肉眼的には相関する変化は認められなかった（4.2.3.2.4 Study No. 7975-101）。これらの炎症性反応は 4 週間の回復期間後に回復又は回復傾向が認められた。

遺伝毒性試験において、P1101 は Ames 試験で陰性であったが、代謝活性化の条件下で培養 CHO 細胞と短期間インキュベーションした結果、染色体異常の増加が認められた。染色体異常発現率のわずかな増加が、代謝活性化条件下で 795 及び 1190 μg/mL の高濃度でみられた。代謝活性化の非存在下では、短期又は長期インキュベーションのいずれにおいても染色体異常頻度の増加はみられなかった。タンパク質は代謝活性化に用いる CYP450 酵素ではなく、プロテアーゼによって代謝されることから、代謝活性化条件下での陽性反応は擬陽性の可能性が高いと考えられる。この考えは、IFNα-2b 製剤及びペグ IFN 製剤には一貫して遺伝毒性や染色体異常誘発性は認められていないことからも支持される。

カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験において、0.675 mg/kg 以上の用量で流産及び胚死亡がみられたが、本薬投与群の胚胎児死亡率の頻度は直近の背景値と同等でその意義は低いと考えられる。一方、同様に IFNα-2b（イントロン A）はアカゲザルにおいて流産を促進することが示されている。ペグイントロン又はイントロン A の雌カニクイザルへの投与は卵巣機能を抑制し、血清エストラジオール及びプロゲステロンのピーク濃度を低下させる[Enright, 2009]。ヒト IFNα-2b を有効成分とする点で、P1101 はこれら既承認製剤と同じであることから、雌の生殖機能へ類似の影響を及ぼすと考えられる。P1101 を投与する患者には、適切な避妊法を用いることを助言されるべきである。

がん原性試験及び幼若動物毒性試験は実施しなかった（妥当性については 2.4 参照）。

以上、P1101 の良好な安全性プロファイルが示され、真性多血症患者に最大用量 500 μg（70 kg 体重で 7.1 μg/kg に相当）まで投与することを妨げるリスクは認められなかった。

2.6.6.10 図表

なし

2.6.6.11 参考文献

1) Griesshammer M, Gisslinger H, Mesa R. Current and future treatment options for polycythemia vera. Ann Hematol. 2015;94(6):901-10.
2) Kiladjian JJ, Cassinat B, Chevret S, Turlure P, Cambier N, Roussel M, et al. Pegylated interferon-alfa-2a induces complete hematologic and molecular responses with low toxicity in polycythemia vera. Blood. 2008;112(8):3065-72.
3) Quintás-Cardama A, Kantarjian H, Manshouri T, Luthra R, Estrov Z, Pierce S, et al. Pegylated interferon alfa-2a yields high rates of hematologic and molecular response in patients with advanced essential thrombocythemia and polycythemia vera. J Clin Oncol. 2009;27(32):5418-24.
4) Stein BL, Oh ST, Berenzon D, Hobbs GS, Kremyanskaya M, Rampal RK, et al. Polycythemia Vera: An Appraisal of the Biology and Management 10 Years After the Discovery of JAK2 V617F. J Clin Oncol. 2015;33(33):3953-60.
5) Enright BP, Compton DR, Collins N, Davis T, McIntyre BS. Comparative effects of interferon alpha-2b and pegylated interferon alpha-2b on menstrual cycles and ovarian hormones in cynomolgus monkeys. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2009;86(1):29-39.

Ropeginterferon alfa-2b

ベスレミ皮下注 250 μg シリンジ

ベスレミ皮下注 500 μg シリンジ

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.7 毒性試験概要表

ファーマエッセンシアジャパン株式会社

略号一覧表

略語・用語	内容
ALB	アルブミン
ALP	アルカリフォスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	薬物血中濃度－時間曲線下面積
BASO	好塩基球
Ca	カルシウム
CHO	チャイニーズハムスター卵巣
CHOL	コレステロール
CK	クレアチンキナーゼ
Cl	塩素
C_{max}	最高血中濃度
CREA	クレアチニン
EOS	好酸球
F	雌
GGT	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
GLOB	グロブリン
GLP	医薬品の安全性試験実施基準
GLU	グルコース
HCT	ヘマトクリット
HGB	ヘモグロビン
IFN	インターフェロン
INU	インターフェロン中和単位
K	カリウム
LDH	乳酸脱水素酵素
LUC	ペルオキシダーゼ陰性大型細胞
LYM	リンパ球
MCH	平均赤血球ヘモグロビン量
M	雄
MCHC	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MCV	平均赤血球容積
MONO	単球
MPV	平均血小板容積
Na	ナトリウム
NEUT	好中球
NOAEL	無毒性量
PEG	ポリエチレングリコール
PHOS	リン
PK	薬物動態
PLT	血小板
PT	プロトロンビン時間
RBC	赤血球
RET	網状赤血球
S9 mix	補酵素類添加肝臓 S9 分画
TBIL	総ビリルビン
T_{max}	最高血中濃度到達時間
TP	総蛋白
TRIG	中性脂肪

UN	尿素窒素
WBC	白血球

目次

頁
略号一覧表 2
2.6.7 毒性試験概要表 5
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 5
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 7
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 8
2.6.7.4 毒性試験：使用ロット 11
2.6.7.5 単回投与毒性試験 13
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 14
2.6.7.6.1 ラットを用いた単回及び多回皮下投与予備試験（4.2.3.2.1 Study No.7975-100） 14
2.6.7.6.2 カニクイザルを用いた漸増用量設定試験及び7日間反復投与毒性試験(4.2.3.2.3 Study No. 7975-102） 15
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 16
2.6.7.7.1 ラットを用いた 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（4.2.3.2.1 Study No. 511-20060035） 16
2.6.7.7.2 カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（4.2.3.2.4 Study No. 7975-101） 23
2.6.7.7.3 カニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性試験（4.2.3.2.5 Study No. 44103-08-300） 37
2.6.7.7.4 カニクイザルを用いた 2 つのロットの 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性比較試験（4.2.3.2.6 Study No. 7975-107） 48
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 55
2.6.7.8.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（4.2.3.3.1.1 Study No. 7975-104） 55
2.6.7.8.2 チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた染色体異常試験（4.2.3.3.1.2 Study No. 7975-105） 60
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 63
2.6.7.9.1 ラットを用いた 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験 63
2.6.7.10 がん原性試験 64
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 65
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 66
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 67
2.6.7.13.1 カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験（4.2.3.5.2.1 Study No. SBL462-004） 67
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 72
2.6.7.15 新生児を用いた試験 73
2.6.7.16 局所刺激性試験 74
2.6.7.17 その他の毒性試験 75

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

表 2.6.7-1 毒性試験一覧

Overview						Test article: P1101	
Type of Study	**Species / Strain**	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Doses**	**GLP Status**	**Testing Facility**	**Study Number**
Single Dose Toxicity	No single dose toxicity studies were performed.						
Repeated Dose Toxicity							
Single and multiple dose range finding study	Rat / Crl:CD(SD)	Subcutaneous	Single dose with 7- day observation Multiple dose: twice weekly for 14 days	Single dose: 0, 200, 2000, 20000 µg/kg/dose Multiple dose: 0, 200, 2000, 20000 µg/kg/dose	No	[redacted]	7975-100 (4.2.3.2.2)
Escalating and multiple dose range finding study	Monkey / Cynomolgus	Subcutaneous	Phase 1: dose escalation: 24 days, dosing on Days 1, 5, 9 Phase 2: multiple dose: twice weekly for 14 days	Dose escalation: 0.675, 2, 6.75 mg/kg/dose Multiple dose: 0, 2, 6.75 mg/kg/dose	No	[redacted]	7975-102 (4.2.3.2.3)
13-week repeat dose toxicity	Rat / CD (SD) IGS	Subcutaneous	Once weekly for 13 weeks + 4-week recovery	0, 0.4, 1.4, 4 mg/kg/dose	Yes	[redacted]	511-20060035 (4.2.3.2.1)
4-week repeat dose toxicity	Monkey / Cynomolgus	Subcutaneous	Twice weekly for 4 weeks + 4-week recovery	0, 0.675, 2, 6.75 mg/kg/dose	Yes	[redacted]	7975-101 (4.2.3.2.4)

表 2.6.7-1　毒性試験一覧（続き）

14-day repeat dose toxicity (Lot Comparison)	Monkey / Cynomolgus	Subcutaneous	Twice weekly for 14 days	0, 6.75 mg/kg/dose	Yes	[redacted]	44103-08-300 (4.2.3.2.5)
14-day repeat dose toxicity (Lot Comparison)	Monkey / Cynomolgus	Subcutaneous	Twice weekly for 14 days	0, 0.675 mg/kg/dose	Yes	[redacted]	7975-107 (4.2.3.2.6)
Genotoxicity							
Bacterial mutagenicity test (Ames test)	*Salmonella typhimurium* strains (TA98, TA100, TA1535,	*In vitro*	-	Dose range finding: 6.67, 10, 33.3, 66.7, 100, 333, 667, 1000, 3330, 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	7975-104 (4.2.3.3.1.1)
	Escherichia coli (WP2*uvr*A)			Mutagenicity study: 33.3, 100, 333, 1000, 3330, 5000 µg/plate			
Chromosomal aberration test	Chinese hamster ovary (CHO) cells	*In vitro*	3 h and 20 h	Without S9 metabolic activation: 6.25, 12.5, 25, 50 µg/mL With S9 metabolic activation: 596, 795, 1190 µg/mL	Yes	[redacted]	7975-105 (4.2.3.3.1.2)
Carcinogenicity	No carcinogenicity studies were performed.						
Reproductive and Developmental Toxicity							
Effects on embryo-fetal development	Monkey / Cynomolgus	Subcutaneous	Twice weekly during organogenesis (Gestation Days 20 to 48)	0, 0.675, 2 mg/kg/dose	Yes	[redacted]	SBL462-004 (4.2.3.5.2.1)
Local Tolerance	No local tolerance studies were performed.						
Other Toxicity Studies	No other toxicity studies were performed.						

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

表 2.6.7-2 トキシコキネティクス試験一覧

Overview of Toxicokinetic Studies				**Test article:** P1101	
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Doses [mg/kg/dose]**	**GLP Compliance**	**Study Number**
4-week repeat dose toxicity	Cynomolgus monkey	Subcutaneous	0, 0.675, 2, 6.75	Yes	7975-101 (4.2.3.2.4)
14-day repeat dose toxicity	Cynomolgus monkey	Subcutaneous	0, 6.75	Yes	44103-08-300 (4.2.3.2.5)
14-day repeat dose toxicity	Cynomolgus monkey	Subcutaneous	0, 0.675	Yes	7975-107 (4.2.3.2.6)
Effects on embryo-fetal development	Cynomolgus monkey	Subcutaneous	0, 0.675, 2	Yes	SBL462-004 (4.2.3.5.2.1)

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

表 2.6.7-3 カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性試験におけるトキシコキネティクス成績

Time Point	PK Parameter	Dose (mg/kg/dose)						Study Number
		0.675		2		6.75		
		Males	Females	Males	Females	Males	Females	
Day 1	$AUC_{0\text{-}72h}$ [h•ng/mL]	379403 ± 162352	491057 ± 140308	1687204 ± 674409	1396471 ± 115587	4517087 ± 1068534	4716740 ± 337950	7975-101 (4.2.3.2.4)
	C_{max} [ng/mL]	6488 ± 2423	8093 ± 2015	28697 ± 13097	23128 ± 2085	82713 ± 18390	81030 ± 4528	
	T_{max} [h]	56 ± 14	40 ± 14	40 ± 28	48 ± 24	48 ± 24	34 ± 13	
Day 24	$AUC_{0\text{-}72h}$ [h•ng/mL]	80138 ± 121850	3433 ± 5535	37300 ± 45454	17558 ± 13183	789175 ± 588682	2549419 ± 3559568	
	C_{max} [ng/mL]	1618 ± 1769	105 ± 159	1670 ± 2152	694 ± 513	31296 ± 22840	44561 ± 48106	
	T_{max} [h]	13 ± 9	10 ± 3	7 ± 1	9 ± 3	12 ± 7	18 ± 9	

Group mean ± Standard deviation

表 2.6.7-4　カニクイザルを用いたロット比較試験におけるトキシコキネティクス成績

Day	Dose (mg/kg/dose)	Lot Number	AUC_{last} [h•μg/mL]		C_{max} [ng/mL]		Study Number
			Males	Females	Males	Females	
Day 1	6.75	DPL-0006-5	3237.35 ± 881.29	NA	62.68 ± 19.79	NA	44103-08-300 (4.2.3.2.5)
		0013-3.375	4090.96 ± 517.05	NA	75.29 ± 16.40	NA	
Day 11	6.75	DPL-0006-5	10364.80 ± 3957.96	3635.56 ± 1116.34	161.12 ± 35.52	67.73 ± 18.01	
		0013-3.375	8949.93 ± 2420.59	4281.84 ± 523.89	142.20 ± 25.62	66.43 ± 8.24	
Day 1	0.675	DPL-0006-5	684.26 ± 198.55	431.30 ± 27.10	13.34 ± 5.20	7.02 ± 0.30	7975-107 (4.2.3.2.6)
		08-DPL-B001	778.67 ± 94.50	545.68 ± 89.99	15.13 ± 1.59	9.46 ± 1.56	
Day 11	0.675	DPL-0006-5	1418.32 ± 223.69	1246.81 ± 595.89	18.06 ± 2.49	20.20 ± 2.59	
		08-DPL-B001	1613.93 ± 130.33	1844.03 ± 258.86	25.71 ± 2.81	26.05 ± 0.88	

Group mean ± Standard deviation
NA: Not available

表 2.6.7-5　カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験におけるトキシコキネティクス成績

Time Point	PK Parameter	Dose (mg/kg/dose)		Study Number
		0.675	2	
Gestation Day 20	$AUC_{0\text{-}72h}$ [h•μg/mL]	499 ± 125	1750 ± 290	SBL462-004 (4.2.3.5.2.1)
	C_{max} [μg/mL]	8.54 ± 1.97	29.8 ± 5.6	
	T_{max} [h]	64 ± 19	68 ± 14	
Gestation Day 48	$AUC_{0\text{-}72h}$ [h•μg/mL]	2.86 ± 3.81	463 ± 1282	
	C_{max} [μg/mL]	0.220 ± 0.271	7.97 ± 19.57	
	T_{max} [h]	6 ± 2	10 ± 5	

Group mean ± Standard deviation

2.6.7.4 毒性試験：使用ロット

表 2.6.7-6 使用ロット一覧

Drug Substance								Test article: P1101	
Batch No.	**Appearance**	**pH**	**Identity (SDS-PAGE)**	**Purity**	**Potency**	**Protein Content**	**Endotoxin**	**Study Number**	**Type of Study**
[redacted]	Clear, colorless liquid	6.03	Conforms with reference standard	[redacted] ≥ 98.4% [redacted] ≥ 91.7%	4.3 x 10^6 IU/mg	4.96 mg/mL	≤6 EU/mg	7975-100 (4.2.3.2.2)	Single and multiple dose range finding study in rat
								7975-102 (4.2.3.2.3)	Escalating and multiple dose range finding study in monkey
DPL-0006-5	Clear, colorless liquid	6.35	Conforms with reference standard	[redacted] ≥ 99.2% [redacted] ≥ 90.2%	3.28 x 10^6 IU/mg	4.96 mg/mL	≤6 EU/mg	7975-101 (4.2.3.2.4)	4-week repeat dose toxicity in monkey
								44103-08-300 (4.2.3.2.5)	14-day repeat dose toxicity in monkey
								7975-107 (4.2.3.2.6)	14-day repeat dose toxicity in monkey
0013-3.375	Opalescence liquid	5.96	Conforms with reference standard	[redacted] ≥ 99.5% [redacted] ≥ 94.8%	2.6 x 10^6 IU/mg	3.30 mg/mL	Not available	44103-08-300 (4.2.3.2.5)	14-day repeat dose toxicity in monkey
08DPL-B001	Clear, colorless liquid	6.0	Conforms with reference standard	[redacted] ≥ 99.5% [redacted] ≥ 95.7%	2.28 x 10^6 IU/mg	2.43 mg/mL	≤0.001 EU/mg	7975-107 (4.2.3.2.6)	14-day repeat dose toxicity in monkey
[redacted]	Clear, colorless liquid	6.03	Conforms with reference standard	[redacted] ≥ 98.4%	4.8 x 10^6 IU/mg	19.96 mg/mL	Not available	7975-104 (4.2.3.3.1.1)	Ames test
								7975-105 (4.2.3.3.1.2)	Chromosomal aberration test

表 2.6.7-7　使用ロット一覧（続き）

[redacted]	Clear, colorless liquid	6.20	Conforms with reference standard	[redacted] ≥ 100% [redacted] ≥ 95.1%	1.81 x 10^6 IU/mg	15.94 mg/mL	Not available	7975-105 (4.2.3.3.1.2)	Chromosomal aberration test
[redacted]	Clear, colorless to slightly yellowish liquid	6.0	Conforms with reference standard	[redacted]: 99.5% [redacted]: 97.7% [redacted]: 97.3%	Not available	5.54 mg/mL	Not available	511-20060035 (4.2.3.2.1)	13-week repeat dose toxicity in rat
								SBL462-004 (4.2.3.5.2.1)	Effects on embryo-fetal development in monkey

2.6.7.5 単回投与毒性試験

独立した単回投与毒性試験は実施していない。単回投与毒性はラットを用いた非 GLP 用量設定試験（4.2.3.2.2 Study No. 7975-100）の一部として評価した（2.6.7.6.1 項）。

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

2.6.7.6.1 ラットを用いた単回及び多回皮下投与予備試験（4.2.3.2.2 Study No.7975-100）

表 2.6.7-7 ラットを用いた単回及び多回皮下投与予備試験

Species / Strain	Method of Administration	Dosing Period	Doses (mg/kg/dose)	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rat / Crl:CD(SD)	Subcutaneous	Single dose + 7-day observation Multiple dose: twice weekly for 14 days on Days 1, 4, 8 and 11	0*, 200, 2000, 20000 µg/kg/dose （*Formulation Buffer:2.3.P.2.1）	3 M / 3 F	Treatment with P1101 was well tolerated and no treatment-related findings were observed. The NOEL following a single or multiple subcutaneous injection of P1101 into rats is ≥ 20,000 µg/kg/dose.	7975-100 (4.2.3.2.2)

2.6.7.6.2 カニクイザルを用いた漸増用量設定試験及び 7 日間反復投与毒性試験（4.2.3.2.3 Study No. 7975-102）

表 2.6.7-8 カニクイザルを用いた漸増用量設定試験及び 7 日間反復投与毒性試験

Species / Strain	Method of Administration	Dosing Period	Doses (mg/kg/dose)	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Monkey / Cynomolgus	Subcutaneous	Phase 1 dose escalation: 24 days, dosing on Days 1, 5, 9 Multiple dose: twice weekly for 14 days on Days 1, 4, 8 and 11	Dose Escalation: 0.675, 2, 6.75 mg/kg/dose Multiple Dose: 0*, 2, 6.75 mg/kg/dose (* Formulation Buffer;2.3.P.2.1)	1 M / 1 F	Phase 1 No mortalities or treatment-related clinical signs. Reduced food consumption in test item treated animals. Slightly, but progressively reduced red blood cell mass with each administration during the dose escalation phase in one female. No macroscopic findings were noted at necropsy. Phase 2 Reduced body weights in test item treated males. Reduced food consumption in test item treated animals. Markedly decreased reticulocyte counts, slightly decreased neutrophil counts and increased APTT in all test item administered animals. Ketonuria in 2 and 6.75 mg/kg treated males. No macroscopic findings were noted at necropsy. NOAEL: < 2 mg/kg.	7975-102 (4.2.3.2.3)

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットを用いた 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（4.2.3.2.1 Study No. 511-20060035）

表 2.6.7-9 ラットを用いた 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験

<table>
<tr><td colspan="2">Report Title: 13-Week Subcutaneous Toxicity and Toxicokinetic Study with a 4-Week Recovery in Rats Ropeginterferon alpha-2b (P1101)</td><td>Test Article: P1101</td></tr>
<tr><td>Species / Strain: Rat / CD (SD) IGS</td><td>Duration of Dosing: 13 weeks, on Days 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78 and 85</td><td rowspan="2">Study Number: 511-20060035 (4.2.3.2.1)</td></tr>
<tr><td>Initial Age: Approximately 9 weeks old</td><td>Duration of Post-dose: 4 weeks</td></tr>
<tr><td>Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]</td><td>Method of Administration: Subcutaneous</td><td>GLP Compliance: Yes</td></tr>
<tr><td>Special Features: Immunogenicity assessment</td><td colspan="2">Vehicle / Formulation: Formulation Buffer:2.3.P.2.1）</td></tr>
<tr><td colspan="3">No Observed Adverse-Effect Level: 4 mg/kg</td></tr>
</table>

表 2.6.7-10　ラットを用いた 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

Noteworthy Findings								
Dose (mg/kg/dose)	**0**		**0.4**		**1.4**		**4**	
Number of Animals	**M:15**	**F:15**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:15**	**F:15**
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%[b])	564.43 g ± 56.43	301.26 ± 18.71	-0.46	+0.35	-3.33	+3.84	+0.29	+0.20
Body Weight Gains (g) (Day 1-87 of Dosing Phase)	219.29 ± 48.57	62.99 ± 16.05	220.09 ± 47.84	67.26 ± 15.23	204.18 ± 37.28	78.19 ± 20.80	225.51 ± 36.31	68.77 ± 10.18
Food Consumption (g food/animal/day) (Day 1-87 of Dosing Phase[c])	28.91 ± 2.20	20.22 ± 0.70	30.11 ± 2.31	20.35 ± 0.77	28.56 ± 1.12	20.87 ± 1.41	29.94 ± 0.61	20.37 ± 0.81
Clinical Observations[d]								
Wounds	1	2	3	1	2	0	1	5
Hair Loss	0	0	0	1	0	0	0	1
Corneal Opacity	0	0	0	1	0	0	0	0
Swelling, Ears	0	0	0	0	0	1	0	0
Malocclusion	0	1	0	0	0	0	0	0
Mass (Nose)	0	0	0	0	0	0	0	1
Number of Animals	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Ophthalmoscopy[e]								
Corneal Opacity, Eye- Left	0	0	0	1	0	0	0	0
Estrous Cycle[f]	No treatment related findings.							
Hematology[g]	No significant differences.							
Clinical Biochemistry[g]	No significant differences.							
Urinalysis[g]	No significant differences.							

表 2.6.7-10　ラットを用いた 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

Peripheral Blood Micronucleus Analysis[h]	No treatment related findings.							
Relative Organ Weights (%[i])								
Adrenal	0.01115 ± 0.00189	0.02456 ± 0.00309	-6.01	+2.81	+1.61	+4.72	-3.59	+9.65
Pituitary	0.00273 ± 0.00048	0.00615 ± 0.00070	-1.47	+11.54	+1.10	+11.06	-6.59	+5.37
Thyroid/Parathyroid	0.00588 ± 0.00136	0.00925 ± 0.00231	-28.06*	-16.65	-26.19*	-22.16*	-10.37	-3.46
Brain	0.42794 ± 0.04224	0.73194 ± 0.06430	-1.78	+0.33	+0.64	-2.62	-4.06	-0.20
Heart	0.30555 ± 0.03012	0.35514 ± 0.03982	+3.11	-0.72	-1.91	+0.92	-5.49	-1.97
Thymus	0.06194 ± 0.01510	0.07237 ± 0.01147	-16.52	+9.69	-13.92	-2.53	+1.16	+11.33
Liver	2.62744 ± 0.23585	2.84026 ± 0.30416	-2.18	-0.65	+1.07	+1.66	+2.81	+0.51
Spleen	0.15515 ± 0.02450	0.17544 ± 0.01683	-6.77	+3.38	-4.50	+8.52	-1.51	+5.81
Kidney	0.65238 ± 0.03279	0.72594 ± 0.06187	+5.30	+0.20	+0.02	-2.39	+0.67	+0.88
Testis	0.63498 ± 0.13521	-	+3.31	-	+8.78	-	+4.66	-
Epididymis	0.25534 ± 0.05509	-	-0.06	-	+31.65	-	-0.04	-
Prostates and seminal Vesicle[j]	0.65862 ± 0.08344	-	+5.33	-	+3.16	-	+6.29	-
Ovaries with Oviducts	-	0.04730 ± 0.00626	-	-6.60	-	-5.90	-	+2.26
Uterus with Cervix	-	0.27517 ± 0.15164	-	-14.81	-	-19.44	-	-14.79

表 2.6.7-10　ラットを用いた 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

Gross Pathology[d]								
INJECTION SITE								
Discoloration, Red	9	10	10	10	9	10	9	10
TESTIS								
Absent, Left	1	-	0	-	0	-	0	-
EPIDIDYMIS								
Decreased Size, Left	1	-	0	-	0	-	0	-
EYE								
Abnormal Content, Left	0	0	0	1	0	0	0	0
LIVER								
Nodule, Right Lateral Lobe	0	0	0	1	0	0	0	0
EAR								
Abnormal Consistency	0	0	0	0	0	1	0	0
Histopathology[d]								
Number of Animals	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:9**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
INJECTION SITE								
Hemorrhage	6 (2.5)	5 (1.6)	8 (1.9)	8 (1.8)	9 (2.2)	6 (2.0)	10 (1.9)	4 (1.8)
Infiltration, Mononuclear	10 (2.0)	7 (1.4)	10 (1.7)	7 (1.4)	4 (3.0)	10 (1.7)	4 (2.0)	9 (1.7)
Number of Animals	**M:10**	**F:10**	-	-	-	-	**M:10**	**F:10**
LIVER								
Infiltration, Mononuclear Cell	2	1	-	-	-	-	2	1
KIDNEY								
Infiltration, Mononuclear Cell, Interstitial	1	0	-	-	-	-	1	1
Degeneration, Tubular Epithelial Cell, Focal	0	0	-	-	-	-	0	1

表 2.6.7-10　ラットを用いた 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

EPIDIDYMIS								
Atrophy, Left	1	-	-	-	-	-	0	-
Post-dose Evaluation: After 4-week recovery period								
Dose (mg/kg/dose)	**0**		**0.4**		**1.4**		**4**	
Number of Animals	**M:5**	**F:5**	-	-	-	-	**M:5**	**F:5**
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	-	-	-	-	0	0
Body Weight (%[b])	617.40 g ± 46.39	309.62 g ± 19.59	-	-	-	-	-6.60	+0.56
Body Weight Gains (g) (Day 1-28 of Recovery Phase)	14.54 ± 12.59	9.42 ± 5.26	-	-	-	-	14.82 ± 11.01	8.50 ± 7.38
Food Consumption (g food/animal/day) (Day 1-28 of Recovery Phase)	29.67 ± 1.91	21.70 ± 0.96 k	-	-	-	-	28.59 ± 2.27	21.43 ± 1.37[l]
Clinical Observations[d]								
Malocclusion	0	1	-	-	-	-	0	0
Ophthalmoscopy[e]	No treatment related findings.							
Estrous Cycle[f]	No treatment related findings.							

表 2.6.7-10　ラットを用いた 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

Hematologyg[g]								
MCHC (g/dL)	36.30 ± 0.25	36.88 ± 0.22	-	-	-	-	35.88 ± 0.28*	36.68 ± 0.44
PLT (10^3/μL)	1109.0 ± 15.1	951.4 ± 142.7	-	-	-	-	1042.0 ± 38.8*	1116.8 ± 221.5
Clinical Biochemistry[g]								
ALT (U/L)	33.90 ± 2.33	33.38 ± 8.07	-	-	-	-	27.42 ± 1.93*	39.78 ± 19.17
Urinalysis[g]	No significant differences.							
Relative Organ Weights (%[i])	No significant differences.							
Gross Pathology[d]								
LUNG								
Discoloration, Multifocal, White	1	0	-	-	-	-	0	0
Histopathology[d]								
INJECTION SITE								
Infiltration, Mononuclear	5 (1.6)	4 (1.0)	-	-	-	-	5 (1.8)	5 (1.6)
Fibrosis	5 (1.6)	4 (1.0)	-	-	-	-	5 (1.8)	5 (1.6)
LUNG								
Aggregates, Macrophages, Foamy, Multifocal	1	0	-	-	-	-	0	0
LIVER								
Infiltration, Mononuclear Cell	2	1	-	-	-	-	1	1

Group mean ± Standard deviation, where applicable.
ANOVA with Dunnett's test for parametric data (Student's t-test for recovery group). For non-parametric data on urinary sediments evaluation and frequency of micronucleus, Kruskal–Wallis and Mann-Whitney U tests: *p<0.05.
a – Samples for TK analysis were obtained at pre-dose, 1, 6 and 12 h after dosing.
b – Controls: mean body weights are shown. Treatment groups: percent difference from control is shown. Statistical analysis is based on actual data (not on the percent differences).
c – N = 10 (Main study animals only).
d – Number of affected animals is shown. Mean severity grade reported in parenthesis only for the test article-related microscopic findings at the injection site. Severity grade: 1-Minimal. 2-Slight, 3-Moderate, 4-Marked, 5-Severe.
e – Examination performed at pre-test phase and before terminal sacrifice.
f – Examination performed before terminal sacrifice.

g – Examinations performed before (urinalysis) or at (hematology and clinical biochemistry) terminal sacrifice. Only significantly changed parameters are presented.
h – Examination performed at the day after the final administration.
i – Organ weights were normalized to body weight at sacrifice. Control groups: Mean organ normalized weights are shown. Treatment groups: percent differences from controls are shown. Statistical analysis is based on actual data (not on the percent differences).
j – Prostates and seminal vesicle: Prostates and seminal vesicles with coagulating glands.
k – N = 4 (Exclude one animal's data, 0045.)
l – N = 4 (Exclude one animal's data, 0042.)

2.6.7.7.2 カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（4.2.3.2.4 Study No. 7975-101）

表 2.6.7-10 カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験

<table>
<tr><td colspan="2">Report Title: 4-Week Subcutaneous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PEG-INF α 2b in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Period</td><td>Test Article: P1101</td></tr>
<tr><td>Species / Strain: Monkey / Cynomolgus</td><td>Duration of Dosing: 4 weeks, on Days 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22 and 24</td><td rowspan="2">Study Number: 7975-101 (4.2.3.2.4)</td></tr>
<tr><td>Initial Age: At least 2 years old</td><td>Duration of Post-dose: 4 weeks</td></tr>
<tr><td>Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]</td><td>Method of Administration: Subcutaneous</td><td>GLP Compliance: Yes</td></tr>
<tr><td>Special Features: Immunogenicity assessment</td><td colspan="2">Vehicle / Formulation: Formulation Buffer:2.3.P.2.1</td></tr>
<tr><td colspan="3">No Observed Adverse-Effect Level: 6.75 mg/kg</td></tr>
</table>

表 2.6.7-11　カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

Dose (mg/kg/dose)	**0**		**0.675**		**2**		**6.75**	
Number of Animals	**M:5**	**F:5**	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**	**M:5**	**F:5**
Toxicokinetics[a]								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}72h}$ [h•ng/mL]	-	-	379403 ± 162352	491057 ± 140308	1687204 ± 674409	1396471 ± 115587	4517087 ± 1068534	4716740 ± 337950
C_{max} [ng/mL]	-	-	6488 ± 2423	8093 ± 2015	28697 ± 13097	23128 ± 2085	82713 ± 18390	81030 ± 4528
T_{max} [h]	-	-	56 ± 14	40 ± 14	40 ± 28	48 ± 24	48 ± 24	34 ± 13
Day 24								
$AUC_{0\text{-}72h}$ [h•ng/mL]	-	-	80138 ± 121850	3433 ± 5535	37300 ± 45454	17558 ± 13183	789175 ± 588682	2549419 ± 3559568
C_{max} [ng/mL]	-	-	1618 ± 1769	105 ± 159	1670 ± 2152	694 ± 513	31296 ± 22840	44561 ± 48106
T_{max} [h]	-	-	13 ± 9	10 ± 3	7 ± 1	9 ± 3	12 ± 7	18 ± 9

表 2.6.7-11　カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

Noteworthy Findings								
Dose (mg/kg/dose)	**0**		**0.675**		**2**		**6.75**	
Number of Animals	**M:5**	**F:5**	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**	**M:5**	**F:5**
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%[b])	2.6 kg ± 0.69	2.3 kg ± 0.04	-3.85	-4.35	-3.85	0	-7.69	0
Body Weight Gains (kg) (Day 1-29 of Dosing Phase)	0	-0.1	0	-0.2	-0.1	-0.1	-0.1	-0.1
Food Consumption[c]	low (2/5)	low (2/5)	low (2/3)	low 3/3	low (3/3)	low (3/3)	low (5/5)	low (5/5)
Clinical Observations[d]								
Discharge Nasal, Clear	0	0	0	0	0	0	1	0
Discharge Nasal, Red	0	0	1	0	0	0	1	0
Discharge, Appears as Menstruation	-	0	-	0	-	1	-	0
Liquid Feces	0	0	0	0	0	0	2	0
Nonformed Feces	0	2	2	1	1	1	5	1
Broken Skin, Lip(s)	0	0	0	0	0	0	1	0
Broken Skin, Nose	0	0	0	0	0	0	1	0
Dermal Irritation	None observed.							
Ophthalmoscopy[e]								
Chorioretinal Scars, Focal Eye-Right	1	0	0	0	0	0	0	0
Corneal Pigmentation, Eye- Right	0	0	0	0	0	0	1	0
Corneal Pigmentation, Eyes	0	0	0	0	0	0	0	1
Electrocardiography	No treatment related findings.							

表 2.6.7-11　カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

Hematology								
Day 13[f]								
RBC [10^6/μL]	5.41 ± 0.582	5.71 ± 0.567	5.10 ± 0.368	5.05 ± 0.397	4.39* ± 0.340	4.55* ± 0.159	4.66* ± 0.235	4.76* ± 0.359
RET [%]	2.1 ± 0.38	1.9 ± 0.66	0.5* ± 0.31	0.9* ± 0.15	0.8* ± 0.10	0.8* ± 0.31	0.6* ± 0.40	0.8* ± 0.42
RET [10^3/μL]	113.4 ± 14.35	106.0 ± 29.57	25.5* ± 18.18	43.8* ± 9.62	35.5* ± 5.09	38.9* ± 14.64	25.0* ± 18.07	35.9* ± 17.13
HCT [%]	40.0 ± 2.24	40.3 ± 1.39	38.2 ± 2.00	37.6 ± 1.80	34.1* ± 2.63	33.5* ± 5.33	34.7* ± 1.70	35.5* ± 2.18
PLT [10^3/μL]	475 ± 27.3	585 ± 76.1	358 ± 61.5	410 ± 91.7	485 ± 208.7	409 ± 115.9	330 ± 81.8	331* ± 118.4
EOS [10^3/μL]	0.04 ± 0.026	0.11 ± 0.058	0.01 ± 0.006	0.06 ± 0.040	0.01 ± 0.010	0.05 ± 0.055	0.02 ± 0.031	0.01* ± 0.004
APTT [s]	27.6 ± 1.87	27.6 ± 0.86	34.6* ± 2.04	34.0* ± 0.71	34.2* ± 1.80	37.1* ± 9.69	37.5* ± 5.95	36.1* ± 2.52
Day 29								
RBC [10^6/μL]	4.90 ± 0.431	5.08 ± 0.458	4.22 ± 0.744	4.75 ± 0.076	4.20 ± 0.300	4.31* ± 0.368	4.21 ± 0.431	4.09* ± 0.253
RET [%]	2.8 ± 0.67	2.6 ± 0.75	8.3 ± 8.96	3.7 ± 1.50	4.6 ± 1.49	3.5 ± 1.05	5.3 ± 3.05	4.0 ± 1.95
RET [10^3/μL]	128.4 ± 23.50	130.9 ± 33.14	303.3 ± 284.93	173.5 ± 74.02	190.5 ± 45.73	149.2 ± 34.53	210.8 ± 98.90	165.0 ± 81.62
HGB [g/dL]	11.4 ± 0.44	11.4 ± 0.73	10.5 ± 1.39	11.2 ± 0.53	10.7 ± 1.15	10.1* ± 0.26	10.3 ± 1.15	10.1* ± 0.64
HCT [%]	38.3 ± 1.32	38.2 ± 1.46	35.5 ± 4.15	38.2 ± 2.69	35.0 ± 3.55	34.0* ± 0.75	34.5 ± 2.71	33.8* ± 1.74
MCV [fL]	78.6 ± 6.39	75.9 ±8.61	84.9 ± 6.09	80.3 ± 4.61	83.1 ± 2.83	79.2 ± 8.73	82.2 ± 4.68	82.8 ± 1.68
MCH [pg]	23.4 ± 2.50	22.6 ± 3.13	25.0 ± 1.21	23.5 ± 0.95	25.4 ± 1.01	23.6 ± 2.40	24.5 ± 1.37	24.7 ± 0.47
MCHC [g/dL]	29.7 ± 1.09	29.7 ± 0.86	29.6 ± 1.00	29.3 ± 0.70	30.5 ± 0.40	29.8 ± 0.59	29.8 ± 1.13	29.8 ± 0.30
PLT [10^3/μL]	493 ± 45.5	616 ± 81.3	460 ± 35.6	588 ± 101.2	592 ± 175.5	632 ± 195.5	526 ± 72.5	520 ± 172.8
WBC [10^3/μL]	9.85 ± 1.316	9.97 ± 2.713	16.89 ± 5.040	10.90 ± 1.588	12.81 ± 3.937	14.76 ± 3.545	14.24 ± 4.433	16.19 ± 4.917
NEUT [10^3/μL]	3.72 ± 0.430	3.73 ± 1.639	8.61* ± 4.364	2.80 ± 0.983	4.37 ± 1.055	5.38 ± 1.709	6.22 ± 3.259	6.72* ±1.727
LYM [10^3/μL]	5.61 ± 1.120	5.64 ± 1.458	7.59 ± 1.111	7.20 ± 1.544	7.80 ± 2.773	8.32 ± 3.621	7.23 ± 2.828	8.75 ± 3.391

表 2.6.7-11　カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

LUC [10^3/μL]	0.05 ± 0.010	0.07 ± 0.015	0.07 ± 0.032	0.19 ± 0.180	0.11 ± 0.061	0.15 ± 0.055	0.12 ± 0.080	0.13 ± 0.073
MONO [10^3/μL]	0.37 ± 0.120	0.31 ± 0.092	0.60 ± 0.356	0.35 ± 0.132	0.35 ± 0.147	0.44 ± 0.125	0.34 ± 0.165	0.53 ± 0.239
EOS [10^3/μL]	0.11 ± 0.045	0.18 ± 0.133	0.07 ± 0.026	0.28 ± 0.229	0.12 ± 0.026	0.37 ± 0.261	0.25 ± 0.160	0.36 ± 0.266
BASO [10^3/μL]	0.04 ± 0.008	0.06 ± 0.019	0.08 ± 0.026	0.08 ± 0.055	0.05 ± 0.017	0.10 ± 0.006	0.07 ± 0.050	0.08 ± 0.050
PT [s]	13.0 ± 1.81	12.6 ± 0.29	12.2 ± 0.87	13.2 ± 0.40	12.1 ± 0.26	12.1 ± 0.20	12.5 ± 0.35	12.4 ± 0.47
APTT [s]	27.5 ± 4.71	24.7 ± 0.35	25.8 ± 1.27	26.3 ± 1.45	25.6 ± 1.75	26.6 ± 4.51	24.6 ± 1.14	27.7 ± 5.71
Clinical Biochemistry								
Day13[f]								
ALP [U/L]	426 ± 56.7	508 ± 168.8	338 ± 58.4	319 ± 155.3	292 ± 110.4	319 ± 44.2	239* ± 54.7	213* ± 39.3
TP [g/dL]	7.6 ± 0.52	7.5 ± 0.38	6.5* ± 0.06	6.6* ± 0.35	6.4* ± 0.15	6.7* ± 0.15	6.4* ± 0.47	6.3* ± 0.26
ALB [g/dL]	4.4 ± 0.23	4.3 ± 0.15	3.6* ± 0.15	3.6* ± 0.25	3.7* ± 0.21	3.8* ± 0.23	3.4* ± 0.15	3.5* ± 0.18
Ca [mg/dL]	10.2 ± 0.33	10.3 ± 0.20	9.5* ± 0.21	9.2* ± 0.29	9.1* ± 0.31	9.3* ± 0.35	9.3* ± 0.28	9.2* ± 0.27
TRIG [mg/dL]	41 ± 13.9	42 ± 5.1	24 ± 9.1	22* ± 5.3	26 ± 4.4	24* ± 7.2	25 ± 9.5	21* ± 8.6
PHOS [mg/dL]	6.9 ± 0.47	6.5 ± 1.11	5.4* ± 0.81	4.4* ± 1.00	5.1* ± 0.40	4.9 ± 0.44	5.3* ± 0.94	4.3* ± 0.60
GGT [U/L]	60 ± 21.2	64 ± 19.8	71 ± 25.2	45 ± 13.3	40 ± 14.2	38 ± 4.4	37 ± 10.8	31* ± 5.0
Day 29								
GLU [mg/dL]	87 ± 26.3	73 ± 14.0	70 ± 11.0	62 ± 7.0	77 ± 10.5	71 ± 19.9	68 ± 2.5	72 ± 9.0
UN [mg/dL]	19 ± 4.2	19 ± 2.3	21 ± 2.6	18 ± 2.1	18 ± 2.6	18 ± 2.3	19 ± 4.1	20 ± 3.1
CREA [mg/dL]	0.6 ± 0.09	0.5 ± 0.08	0.6 ± 0.06	0.5 ± 0.00	0.5 ± 0.06	0.5 ± 0.06	0.5 ± 0.04	0.5 ± 0.00
ALP [U/L]	391 ± 88.8	455 ± 160.8	392 ± 85.9	348 ± 215.4	282 ± 97.9	339 ± 72.2	313 ± 51.2	254 ± 61.0
CHOL [mg/dL]	139 ± 37.0	134 ± 20.3	156 ± 26.5	144 ± 59.5	138 ± 14.6	171 ± 8.7	130 ± 30.5	142 ± 13.7
AST [U/L]	43 ± 10.9	36 ± 4.2	38 ± 11.0	48 ± 16.8	40 ± 20.4	31 ± 2.6	36 ± 6.8	42 ± 12.2
ALT [U/L]	48 ± 17.2	57 ± 19.0	61 ± 40.3	61 ± 22.9	40 ± 5.8	36 ± 5.6	38 ± 7.4	36 ± 5.9
TP [g/dL]	7.1 ± 0.40	7.3 ± 0.48	6.9 ± 0.32	7.1 ± 0.40	7.1 ± 0.15	7.4 ± 0.38	7.4 ± 0.32	6.7 ± 0.51

表 2.6.7-11　カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

ALB [g/dL]	4.2 ± 0.23	4.3 ± 0.11	3.9 ± 0.36	3.3* ± 1.02	4.1 ± 0.15	4.1 ± 0.10	3.9 ± 0.32	3.5* ± 0.22
GLOB [g/dL]	3.0 ± 0.24	3.0 ± 0.45	3.0 ± 0.15	3.9 ± 0.64	3.1 ± 0.15	3.3 ± 0.29	3.5* ± 0.40	3.2 ± 0.37
ALB/GLOB Ratio	1.4 ± 0.11	1.4 ± 0.21	1.3 ± 0.16	0.9* ± 0.37	1.3 ± 0.10	1.3 ± 0.08	1.1* ± 0.18	1.1* ± 0.12
Ca [mg/dL]	9.8 ± 0.30	10.3 ± 0.27	9.9 ± 0.36	9.4* ± 0.10	9.8 ± 0.23	9.9 ± 0.10	9.8 ± 0.30	9.6* ± 0.44
TBIL [mg/dL]	0.1 ± 0.09	0.1 ± 0.04	0.2 ± 0.06	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.06	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.04
TRIG [mg/dL]	34 ± 11.6	28 ± 10.9	24 ± 8.5	29 ± 18.5	18 ± 4.0	30 ± 11.0	34 ± 11.8	22 ± 7.7
PHOS [mg/dL]	6.0 ± 0.65	5.6 ± 0.93	6.0 ± 0.92	5.6 ± 0.78	5.9 ± 0.20	6.2 ± 0.62	5.9 ± 0.91	5.5 ± 1.57
GGT [U/L]	58 ± 20.5	61 ± 18.6	78 ± 33.3	44 ± 10.6	43 ± 15.1	42 ± 5.5	39 ± 12.3	32* ± 8.9
Na [mmol/L]	148 ± 2.3	146 ± 1.1	151 ± 1.2	148 ± 3.0	151 ± 2.5	149 ± 3.1	149 ± 2.2	150 ± 1.1
K [mmol/L]	4.3 ± 0.33	4.8 ± 0.65	4.7 ± 0.15	4.8 ± 0.95	4.5 ± 0.35	4.7 ± 0.49	4.5 ± 0.40	4.6 ± 0.27
Cl [mmol/L]	107 ± 2.6	110 ± 1.3	109 ± 1.2	111 ± 0.6	110 ± 4.7	109 ± 2.6	109 ± 2.8	110 ± 2.2
Urinalysis								
Day 9								
Ketones Present	0/5	0/5	2/3	3/3	3/3	0/3	3/5	3/5
Day 27								
Ketones Present	1/5	0/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/5	0/5
Number of Animals	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**
Relative Organ Weights (%[g])								
Brain	2.810 ± 1.1395	2.827 ± 0.1598	-6.44	-2.09	+0.14	-0.67	-1.07	+0.14
Heart	0.382 ± 0.0363	0.396 ± 0.0180	-7.07	-8.84	-0.52	+2.78	+9.69	-7.83
Kidney	0.426 ± 0.0237	0.498 ± 0.0175	+9.86	+9.84	+22.30	+4.02	+19.48	0
Lung	0.483 ± 0.1281	0.544 ± 0.0206	+9.11	+18.93	+9.94	-2.21	+10.14	+2.94

表 2.6.7-11　カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

Spleen	0.118 ± 0.0311	0.135 ± 0.0524	+13.56	+14.81	+9.32	+60.00	-2.54	+7.41
Liver with Gallbladder	1.912 ± 0.2096	2.061 ± 0.0493	+10.98	+17.86	+7.53	+13.34	+23.59	+19.94
Adrenal	0.022 ± 0.0049	0.022 ± 0.0029	+9.09	+9.09	-9.09	0	-9.09	-4.55
Epididymis	0.028 ± 0.0205	-	-28.57	-	-25.00	-	-28.57	-
Pituitary	0.001 ± 0.0002	0.002 ± 0.0005	+100	0	+100	0	0	0
Thymus	0.068 ± 0.0142	0.122 ± 0.0247	+57.35	-13.11	+51.47	-47.54	+42.65	-40.16
Seminal Vesicle	0.032 ± 0.0105	-	-21.88	-	-40.63	-	-37.50	-
Prostate	0.021 ± 0.0158	-	-23.81	-	-4.76	-	-28.57	-
Testis	0.124 ± 0.1651	-	-70.16	-	-53.23	-	-61.29	-
Uterus	-	0.100 ± 0.0292	-	+15.00	-	+9.00	-	-3.00
Ovary	-	0.008 ± 0.0027	-	+12.50	-	+12.50	-	+37.50
Thyroid with Parathyroid	0.017 ± 0.0043	0.012 ± 0.0020	-35.29	+16.67	-11.76	+25.00	-5.88	+33.33
Mandibular Salivary Gland	0.076 ± 0.0145	0.067 ± 0.0021	0	-1.49	-7.89	+25.37	+36.84	+7.46
Gross Pathology[d]								
THYROID								
Large	0	0	0	0	0	1	0	0
Missing	0	0	0	0	0	1	0	0
Histopathology[d]								

表 2.6.7-11　カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

MARROW, FEMUR								
Lymphoid Nodule (s)	0	0	0	0	0	1	0	0
NERVE SCIATIC								
Degeneration	0	0	0	0	1	0	0	0
ADRENAL, CORTEX								
Mineralization	1	0	0	0	0	0	0	0
Vacuolation, Decreased	0	1	0	1	0	1	0	1
THYROID								
Cyst, Follicle	0	0	1	0	0	0	0	0
LUNG								
Infiltrate, Macrophages, Alveolus	1	0	0	0	0	0	0	2
Inflammation, Chronic	0	1	0	0	0	0	0	0
LIVER								
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	3	2	3	3	3	2	3	3
Granuloma	0	0	0	1	0	0	0	0
Parasite	0	0	0	1	0	0	0	0
Lipidosis, Tension	0	0	1	0	0	0	0	0
Hypertrophy/Hyperplasia, Kupffer Cell	0	0	0	1	0	0	0	0
KIDNEY								
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	2	3	2	2	2	2	2	2
Mineralization, Tubule	1	0	1	0	0	2	0	1

表 2.6.7-11　カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

Basophilic Tubule	0	1	0	1	0	0	1	0
Glomerulonephritis	0	0	0	1	0	0	0	0
PANCREAS								
Inflammation, Chronic	0	0	0	0	0	1	0	0
MANDIBULAR SALIVARY GLAND								
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	3	3	1	1	3	2	2	0
Mineralization	0	0	0	0	0	0	1	0
THYMUS								
Depletion Lymphocytes	1	0	0	0	0	1	1	1
MUSCLE, BICEPS FEMORIS								
Regeneration, Myofiber	0	0	0	0	0	1	0	0
SKIN/SUBCUTIS								
Parasite	0	0	0	0	0	1	0	0
TESTIS								
Immature	2	-	3	-	3	-	3	-
CERVIX								
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	-	0	-	0	-	0	-	1
OVARY								
Mineralization	-	2	-	2	-	2	-	2
Cyst, Follicle	-	0	-	1	-	0	-	0
LACRIMAL GLAND								

表 2.6.7-11　カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	1	0	1	2	1	3	1	2
HEART								
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	1	3	2	2	3	0	2	1
Steatitis, Epicardium	0	0	0	0	0	0	0	1
INJECTION SITE								
Fibrosis/Fibroplasia	1	1	2	1	0	1	0	0
Hemorrhage	1	3	2	0	0	1	0	0
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	1 (0.7)	0 (0.0)	3(2.0)	3 (2.0)	2 (1.7)	3 (2.3)	3 (2.7)	3 (2.0)
Degeneration/Necrosis, Collagen	1	0	2	0	0	1	0	0
Investigation of Immune Response – Induction of INF α 2b Neutralizing Antibodies[h]								
Number of Animals	**M:5**	**F:5**	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**	**M:5**	**F:5**
Anti - Drug Antibodies in Serum	The individual animal data is presented in the Report No. 7975-101, Contributor report: Immunogenicity Study II in Cynomolgus Monkeys via a Repetitive Dose of PEG-IFNα 2b (P1101)							
Number of Animals	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**	**M:5**	**F:5**
INF α 2b Neutralizing Antibodies in Serum (Day 29, Dosing Phase)								
Present/Absent (No. of Animals)	Absent (3/3)	Absent (3/3)	Present (2/3)	Present (3/3)	Present (3/3)	Present (3/3)	Present (5/5)	Present (2/5)
Neutralizing Titer (INU/mL)[i]	Not detected	Not detected	1833 ± 2021	9444 ± 10308	8667 ± 7024	46889 ± 70472	11733 ± 11591	1800 ± 3493

表 2.6.7-11　カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

Post-dose Evaluation: After 4-week recovery period

Dose (mg/kg/dose)	**0**		**0.675**		**2**		**6.75**	
Number of Animals	**M:2**	**F:2**	-	-	-	-	**M:2**	**F:2**
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	-	-	-	-	0	0
Body Weight (%[j])	2600 g ± 141	2350 g ± 70	-	-	-	-	-1.92	+10.64
Body Weight Gains (kg) (Dosing Day 29-Recovery Day 30)	0.2 ± 0.00	0.1 ± 0.00	-	-	-	-	0.3 ± 0.21	0.2 ± 0.07
Clinical Observations[k]								
Excretion, Liquid Feces	0	0	-	-	-	-	1	0
Skin and Pelage								
Scab (s), Proximal Tail	0	1	-	-	-	-	0	0
Hematology[l]								
RBC [10^6/μL]	5.70 ± 0.410	6.92 ± 0.382	-	-	-	-	5.80 ± 0.163	5.69 ± 0.325
HGB [g/dL]	13.8 ± 0.57	14.5 ± 1.41	-	-	-	-	13.1 ± 0.07	13.6 ± 0.78
HCT [%]	44.1 ± 3.11	46.8 ± 2.40	-	-	-	-	43.2 ± 0.85	44.6 ± 3.82
NEUT [10^3/μL]	1.68 ± 0.502	3.00 ± 0.354	-	-	-	-	2.91 ± 1.457	6.41 ± 0.191
Clinical Biochemistry[l]								
ALB [g/dL]	4.1 ± 0.14	4.3 ± 0.14	-	-	-	-	4.1 ± 0.14	4.1 ± 0.07
GLOB [g/dL]	2.9 ± 0.21	3.1 ± 0.42	-	-	-	-	3.1 ± 0.00	3.4 ± 0.28
ALB/GLOB Ratio	1.4 ± 0.06	1.4 ± 0.24	-	-	-	-	1.3 ± 0.05	1.2 ± 0.08
Ca [mg/dL]	10.1 ± 0.49	10.1 ± 0.21	-	-	-	-	9.9 ± 0.00	10.1 ± 0.49

表 2.6.7-11　カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

GGT [U/L]	96 ± 23.3	62 ± 28.3	-	-	-	-	38 ± 1.4	49 ± 24.0
Gross Pathology	No remarkable findings.							
Histopathology[d]								
MARROW, STERNUM								
Lymphoid Nodule (s)	1	0	-	-	-	-	0	0
NERVE, SCIATIC								
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	0	0	-	-	-	-	0	1
ADRENAL, CORTEX								
Mineralization	0	0	-	-	-	-	1	0
THYROID								
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	0	0	-	-	-	-	0	2
LIVER								
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	1	2	-	-	-	-	1	1
KIDNEY								
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	2	2	-	-	-	-	1	2
Mineralization, Tubule	1	1	-	-	-	-	2	0
STOMACH, GLANDULAR								
Congestion/Hemorrhage	0	1	-	-	-	-	0	0
Inflammation	0	1	-	-	-	-	0	0
MANDIBULAR SALIVARY GLAND								

表 2.6.7-11　カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	2	2	-	-	-	-	2	1
Mineralization	0	0	-	-	-	-	1	0
THYMUS								
Depletion, Lymphocytes	0	0	-	-	-	-	0	1
MUSCLE, BICEPS FEMORIS								
Regeneration, Myofiber	0	0	-	-	-	-	0	1
Fibrosis	0	0	-	-	-	-	0	1
TESTIS								
Immature	2	-	-	-	-	-	2	-
OVARY								
Mineralization	-	0	-	-	-	-	-	2
LACRIMAL GLAND								
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	1	2	-	-	-	-	1	1
HEART								
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	0	1	-	-	-	-	2	2
INJECTION SITE								
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	0	0	-	-	-	-	1 (0.5)	1 (0.5)
Investigation of Immune Response – Induction of INF α 2b Neutralizing Antibodies – Post-dose Evaluation[h]								
Number of Animals	**M:2**	**F:2**	-	-	-	-	**M:2**	**F:2**
Anti - Drug Antibodies in Serum	The individual animal data is presented in the Report No. 7975-101, Contributor report: Immunogenicity Study II in Cynomolgus Monkeys via a Repetitive Dose of PEG-IFNα 2b (P1101)							
INF α 2b Neutralizing Antibodies in Serum								

表 2.6.7-11　カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験（続き）

Present/Absent (No. of Animals)	Absent (2/2)	Absent (2/2)	-	-	-	-	Present (2/2)	Present (2/2)
Neutralizing Titer (INU/mL)[m]	Not detected	Not detected	-	-	-	-	12667	2500

Group mean ± Standard deviation, where applicable.
ANOVA with Dunnett's test if applicable: *p<0.05; Statistical analysis was not performed with the recovery groups.
a – Samples for TK analysis were obtained at pre-dose, 4, 6, 8, 12, 24, 48 and 72 h after dosing.
b – Controls: mean body weights are shown. Treatment groups: percent difference from control is shown. Statistical analysis is based on actual data (not on the percent differences).
c – Qualitative assessment and fraction of affected animals shown.
d – Number of affected animals is shown. Mean severity grade reported in parenthesis only for the test article-related microscopic findings at the injection site. Severity grade: 1-Minimal. 2-Slight, 3-Moderate, 4-Marked, 5-Severe.
e – Examination performed on Day 23 of the dosing Phase.
f – Only significantly changed parameters are presented.
g – Organ weights were normalized to body weight at sacrifice. Control groups: Mean organ normalized weights are shown. Treatment groups: percent differences from controls are shown. Statistical analysis is based on actual data (not on the percent differences).
h – The immunogenicity study was performed with a non-validated method and is not considered as GLP compliant by Covance, where the main study was performed. The Quality assurance department of the sponsor (PharmaEssentia) issued a quality assurance statement claiming a GLP compliance of the immunogenicity study.
i – Group mean ± Standard deviation at sacrifice at the end of the dosing phase. Detection limit was 500 INU/mL. Samples reported as not detected were treated as 0 INU/mL for the purpose of the calculation of means ± Standard deviations.
j – Controls: mean body weights are shown. Treatment groups: percent difference from control weight is shown.
k – Number of affected animals is shown.
l – Analyzed at recovery sacrifice. Parameters that were significantly changed at the end of the dosing phase are shown.
m – Group mean at sacrifice at the end of the recovery phase. Detection limit was 500 INU/mL.

2.6.7.7.3 カニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性試験（4.2.3.2.5 Study No. 44103-08-300）

表 2.6.7-11 カニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性試験

Report Title: A 14-Day Repeat-Dose Subcutaneous Toxicity Study with Toxicokinetics and Immunogenicity of P1101 in Cynomolgus Monkeys		**Test Article:** P1101
Species / Strain: Monkey / Cynomolgus	**Duration of Dosing:** 14 days, on Days 1, 4, 8 and 11	**Study Number:** 44103-08-300 (4.2.3.2.5)
Initial Age: Approximately 2-4 years old	**Duration of Post-dose:** Animals were sacrificed 4 days after the last dose. No recovery groups were included in the study.	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Subcutaneous	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Immunogenicity assessment	**Vehicle / Formulation:** Formulation Buffer:2.3.P.2.1	
No Observed Adverse-Effect Level: Not applicable		

表 2.6.7-12　カニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性試験（続き）

Dose (mg/kg/dose)	**0**		**6.75 (Lot No. DPL-0006-5)**		**6.75 (Lot No. 0013-3.375)**	
Number of Animals	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**
Toxicokinetics[a]						
Day 1 (First Dose)						
AUC_{last} [h•μg/mL]	-	-	3237.35 ± 881.29	NA	4090.96 ± 517.05	NA
C_{max} [μg/mL]	-	-	62.68 ± 19.79	NA	75.29 ± 16.40	NA
Day 11 (Last Dose)						
AUC_{last} [h•μg/mL][b]	-	-	10364.80 ± 3957.96	3635.56 ± 1116.34	8949.93 ± 2420.59	4281.84 ± 523.89
C_{max} [μg/mL][b]	-	-	161.12 ± 35.52	67.73 ± 18.01	142.20 ± 25.62	66.43 ± 8.24

表 2.6.7-12　カニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性試験（続き）

Noteworthy Findings						
Dose (mg/kg/dose)	0		**6.75 (Lot No. DPL-0006-5)**		**6.75 (Lot No. 0013-3.375)**	
Number of Animals	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%[c])	3.240 kg ± 0.592	2.587 kg ± 0.208	-4.10	-10.05	-12.75	-8.50
% Body Weight Gain (Day 1-15 Interval)	1.20 ± 0.91	2.09 ± 3.32	-6.62 ± 4.13	-8.77 ± 4.16	-8.10 ± 1.32	-12.81 ± 7.84
Food Consumption[d]						
Reduced	0	0	2	2	2	3
Cageside Observations[e]						
Diarrhea	1	2	1	1	0	1
Soft Stool	1	1	0	1	0	1
Emesis	1	2	0	0	0	0
Mucous	0	0	0	0	0	1
Detailed Clinical Observations[e]						
Diarrhea	0	2	0	1	0	1
Soft Stool	0	0	0	1	0	1
Emesis	1	2	0	0	0	0
Discoloration	0	0	0	1	0	0
Sore	0	0	0	1	0	0
Alopecia	0	0	0	0	1	0
Dermal Draize Observations	No test item related findings.					
Ophthalmoscopy	No abnormal ocular findings.					
Electrocardiography	No treatment related findings.					
Blood Pressure						

表 2.6.7-12　カニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性試験（続き）

Systolic Blood Pressure	137.23 ± 10.80	118.90 ± 9.51	109.43 ± 7.53	106.10 ± 16.77	100.77 ± 24.58	105.90 ± 7.73
Diastolic Blood Pressure	74.57 ± 11.09	71.10 ± 12.89	61.20 ± 13.29	54.87 ±3.89	63.87 ± 14.46	65.23 ± 3.88
Mean Artery Pressure	100.77 ± 10.44	89.20 ± 9.71	80.53 ± 9.21	75.53 ±4.52	77.43 ± 19.86	79.33 ± 3.35
Body Temperature	37.33 ± 0.32	37.50 ± 0.20	37.47 ± 0.25	37.33 ± 0.21	37.07 ± 0.67	36.70 ± 0.79
Hematology						
RBC [10^6/μL]	5.007 ± 0.399	5.080 ± 0.251	4.557 ± 0.182	4.183 ± 0.621	4.830 ± 0.347	4.330 ± 0.725
HCT [%]	37.40 ± 1.32	34.93 ± 3.00	30.23* ± 3.02	28.13 ± 1.01	33.43 ± 1.59	31.53 ± 3.96
HGB [g/dL]	12.80 ± 0.52	11.37 ± 1.46	10.10* ± 1.11	9.40 ± 0.36	11.33 ± 0.72	10.47 ± 1.36
MCV [fL]	74.97 ± 4.02	68.73 ± 5.44	66.40 ± 5.98	67.90 ± 7.34	69.30 ± 1.82	73.33 ± 4.57
MCH [pg]	25.70 ± 1.48	22.40 ± 2.69	22.17 ± 2.79	22.83 ± 3.84	23.53 ± 0.15	24.27 ± 1.89
MCHC [g/dL]	34.23 ± 0.29	32.57 ± 1.45	33.37 ± 1.81	33.47 ± 2.32	33.93 ± 0.64	33.07 ± 0.64
RET [10^3/μL]	87.27 ± 12.51	109.57 ± 53.4	15.30* ± 13.33	23.83* ± 20.26	14.30* ± 9.96	15.80* ± 4.07
WBC [10^3/μL]	14.037 ± 6.473	12.350 ± 1.999	8.030 ± 1.871	13.377 ± 3.639	11.430 ± 2.671	8.570 ± 0.310
NEUT [10^3/μL]	6.243 ± 1.511	5.143 ± 1.612	2.803 ± 2.305	5.590 ± 3.045	4.380 ± 1.907	3.340 ± 1.733
LYM [10^3/μL]	7.150 ± 4.934	6.403 ± 1.677	4.697 ± 1.767	6.770 ± 0.902	6.297 ± 1.157	4.820 ± 1.925
MONO [10^3/μL]	0.343 ± 0.021	0.427 ± 0.05	0.300 ± 0.131	0.620 ± 0.398	0.430 ± 0.135	0.247 ± 0.042
BASO [10^3/μL]	0.040 ± 0.035	0.037 ± 0.021	0.053 ± 0.040	0.087* ± 0.025	0.073 ± 0.006	0.027 ± 0.006
EOS [10^3/μL]	0.203 ± 0.223	0.220 ± 0.148	0.037 ± 0.015	0.097 ± 0.067	0.037 ± 0.006	0.043 ± 0.049
PLT [10^3/μL]	406.7 ± 49.9	431.0 ± 39.9	382.3 ± 158.6	318.3 ± 64.3	319.3 ± 52.2	400.3 ± 175.0
MPV [fL]	8.17 ± 1.50	8.27 ± 1.12	8.93 ± 1.23	9.43 ± 1.50	8.60 ± 2.01	8.20 ± 2.03
APTT [s]	21.53 ± 1.76	19.97 ± 1.76	26.07 ± 3.16	24.37 ± 2.37	26.77 ± 1.89	29.03* ± 2.15
PT [s]	10.33 ± 0.21	10.90 ± 0.36	10.70 ± 0.26	9.63* ± 0.32	10.00 ± 0.26	10.13* ± 0.21
Clinical Biochemistry						
ALT [U/L]	65.7 ± 20.7	54.7 ± 26.4	204.7 ± 184.8	88.0 ± 87.3	88.3 ± 27.8	76.0 ± 72.7
AST [U/L]	81.3 ± 22.9	54.3 ± 12.7	159.0 ± 125.0	77.0 ± 32.5	121.3 ± 81.2	110.3 ± 76.5
ALP [U/L]	540.7 ± 67.8	567.3 ± 316.2	396.0 ± 25.5	229.7 ± 118.0	353.7 ± 262.2	334.7 ± 60.3
GGT [U/L]	59.23 ± 2.70	58.53 ± 14.91	69.97 ± 13.86	42.67 ± 15.15	49.93 ± 20.21	41.10 ± 17.31

表 2.6.7-12　カニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性試験（続き）

CK [U/L]	2038.3 ± 297.0	767.3 ± 565.5	471.7** ± 197.4	439.7 ± 256.2	662.7** ± 331.2	1218.0 ± 935.6
LDH [U/L]	710.87 ± 9.49	401.07 ± 71.57	558.80 ± 209.55	751.97 ± 479.39	577.40 ± 48.44	501.57 ± 272.70
TP [g/L]	71.47 ± 1.89	75.43 ± 4.78	57.73 ± 7.00	60.63* ± 2.99	60.30 ± 6.50	58.60** ± 5.91
ALB [g/dL]	42.00 ± 1.14	40.37 ± 1.70	33.60** ± 2.89	33.27 ± 1.79	35.10* ± 2.48	31.60 ± 6.09
GLOB [g/dL]	29.47 ± 1.14	35.07 ± 3.60	24.13 ± 4.38	27.37* ± 1.29	25.20 ± 4.08	27.00** ± 0.70
ALB/GLOB Ratio	1.427 ± 0.049	1.157 ± 0.097	1.410 ± 0.147	1.217 ± 0.031	1.410 ± 0.151	1.173 ± 0.235
TBIL [µmol/L]	3.900 ± 1.974	5.247 ± 2.618	2.733 ± 0.702	2.117 ± 0.091	3.057 ± 0.831	3.733 ± 1.896
UN [mmol/L]	7.217 ± 0.890	8.910 ± 1.010	9.840 ± 3.090	7.637 ± 0.918	11.400 ± 2.693	8.900 ± 2.475
CREA [µmol/L]	65.3 ± 4.6	56.0 ± 9.8	58.3 ± 4.0	45.3 ± 6.7	60.3 ± 18.8	41.0 ± 7.0
UN/CREA Ratio	12.560 ± 0.723	18.540 ± 4.225	19.517 ± 7.420	19.357 ± 2.330	21.843 ± 1.469	24.567 ± 4.212
GLU [mmol/L]	4.270 ± 1.161	3.600 ± 1.091	4.673 ± 0.857	4.837 ± 0.508	4.400 ± 0.233	4.113 ± 0.129
CHOL [mmol/L]	3.047 ± 0.406	2.877 ± 0.200	4.150 ± 0.956	3.637 ± 0.513	3.563 ± 1.013	3.410 ± 0.641
TRIG [mmol/L]	0.400 ± 0.056	0.490 ± 0.082	0.113** ± 0.042	0.193 ± 0.057	0.107** ± 0.055	0.177 ± 0.136
Na [mmol/L]	145.07 ± 4.36	147.17 ± 1.01	147.40 ± 0.69	145.83 ± 1.47	146.67 ± 2.04	144.73 ± 2.37
K [mmol/L]	5.053 ± 0.629	4.503 ± 0.385	5.297 ± 0.124	4.720 ± 0.156	5.097 ± 0.547	5.037 ± 0.448
Cl [mmol/L]	107.00 ± 2.51	108.33 ± 0.85	110.80 ± 3.92	111.77 ± 2.97	109.07 ± 0.60	106.47 ± 4.17
Ca [mmol/L]	2.580 ± 0.010	2.553 ± 0.051	2.403* ± 0.098	2.363 ± 0.076	2.313** ± 0.021	2.153 ± 0.266
PHOS [mmol/L]	2.00 ± 0.10	2.33 ± 0.35	1.67 ± 0.15	1.27 ± 0.29	1.87 ± 0.40	1.73 ± 0.85
Urinalysis on Day 15[e]						
Blood in Urine	1/3	1/3	3/3	3/3	2/3	3/3
Relative Organ Weights (%[f])						
Brain	2.0527 ± 0.6567	2.3570 ± 0.1027	+10.52	+15.87	+23.35	+16.15
Heart	0.3433 ± 0.0245	0.3630 ± 0.0461	+13.52	+27.74	+7.19	+0.83
Kidney	0.3710 ± 0.0202	0.3963 ± 0.0339	+17.98	+18.34	+20.03	+33.81
Lung	0.4913 ± 0.0669	0.5047 ± 0.0125	-7.19	+46.48	+6.80	+28.69
Spleen	0.1393 ± 0.0180	0.2143 ± 0.0408	+23.69	+0.79	+98.13	-31.87
Liver with drained gallbladder	1.7787 ± 0.0235	2.2413 ± 0.2137	+31.40**	+17.16	+22.86**	+11.20

表 2.6.7-12　カニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性試験（続き）

Adrenal	0.0173 ± 0.0067	0.0183 ± 0.0038	0.00	+9.29	+15.61	+13.11
Pituitary	0.0010 ± 0.0000	0.0017 ± 0.0006	+70.00	+17.65	+70.00	+17.65
Thymus	0.1133 ± 0.0240	0.1063 ± 0.0528	-70.61**	-58.33	-64.96**	-56.73
Thyroid	0.0087 ± 0.0023	0.0120 ± 0.0026	+6.90	+52.50	0.00	+41.67
Salivary Gland	0.0897 ± 0.0283	0.0800 ± 0.0243	+10.03	-29.63	-20.85	-15.38
Epididymis	0.0380 ± 0.0130	-	-8.68	-	-29.74	-
Seminal Vesicle	0.0403 ± 0.0258	-	+11.66	-	+7.44	-
Prostate	0.0153 ± 0.0104	-	-1.96	-	-34.64	-
Testes	0.0800 ± 0.0236	-	-28.75	-	-36.25	-
Uterus with Cervix	-	0.2103 ± 0.0065	-	-41.18	-	-29.48
Ovary	-	0.0090 ± 0.0036	-	0.00	-	+22.22
Gross Pathology						
THYMUS						
Decreased in Size	0	0	0	1	1	1
LUNGS WITH MAINSTEM BRONCHI						
Discoloration, Red, Multifocal	0	0	0	1	0	0
LIVER						
Discoloration, White, Multifocal	0	1	0	0	0	0
Cyst	0	0	0	0	0	1
STOMACH						
Discoloration, Dark Red; Mucosa Multifocal	0	0	0	0	1	0
Ulcer, Mucosa, Multifocal	0	0	0	0	0	1
OVARY						
Cyst	-	0	-	0	-	2
SKIN						

表 2.6.7-12　カニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性試験（続き）

Alopecia	0	0	0	0	1	0
Sore	0	0	0	1	0	0
INJECTION SITE, LEFT FORELIMB						
Discoloration, Red, Focal	0	0	0	0	0	2
INJECTION SITE, RIGHT FORELIMB						
Discoloration, Red, Focal	2	0	1	0	1	1
Discoloration, Red, Multifocal	0	1	0	1	0	0
Histopathology						
MAMMARY GLAND						
Infiltrate, Neutrophilic, Lumen, Focal	1	0	0	0	0	0
LACRIMAL GLAND						
Infiltrate, Mononuclear Cell, Focal	0	1	0	0	2	0
Infiltrate, Mononuclear Cell, Multifocal	1	2	3	2	1	1
THYMUS						
Atrophy, Diffuse	1	2	3	3	2	3
HEART						
Infiltrate, Mononuclear Cell, Focal	0	2	0	0	1	0
LUNGS WITH MAINSTEM BRONCHI						
Inflammation, Mixed Cell, Focal	0	0	0	0	0	1
Inflammation, Mixed Cell, Multifocal	0	0	0	1	1	1
LIVER						
Cyst, Locally Extensive	0	0	0	0	0	1

表 2.6.7-12　カニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性試験（続き）

Infiltrate, Mononuclear Cell, Focal	0	0	0	0	0	1
Infiltrate, Mononuclear Cell, Multifocal	1	1	0	1	0	1
Lipidosis, Focal	0	1	0	0	0	0
STOMACH						
Hemorrhage, Lamina Propria, Focal	0	0	0	0	1	0
Necrosis, Focal	0	0	0	0	0	1
Necrosis, Multifocal	0	0	0	0	1	0
COLON						
Granuloma, Serosal, Focal	0	1	0	0	0	0
KIDNEY						
Infiltrate, Mononuclear Cell, Multifocal	0	1	0	1	0	0
OVARY						
Cyst	-	0	-	0	-	1
Cyst, Follicular	-	0	-	0	-	1
TESTIS						
Immature, Diffuse	3	-	3	-	3	-
BRAIN, CEREBELLUM						
Infiltrate, Mononuclear Cell, Perivascular, Multifocal	0	0	1	0	1	0
BRAIN, CEREBRUM						
Infiltrate, Mononuclear Cell, Perivascular, Multifocal	0	0	1	1	3	0
BRAIN STEM						
Infiltrate, Mononuclear Cell, Perivascular, Multifocal	0	0	0	0	1	0
SALIVARY GLAND						

表 2.6.7-12　カニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性試験（続き）

Infiltrate, Mononuclear Cell, Focal	0	1	1	0	0	0
Infiltrate, Mononuclear Cell, Multifocal	2	1	2	2	3	1
LYMPH NODE, MANDIBULAR						
Infiltrate, Granulomatous, Diffuse	0	0	2	0	0	0
LYMPH NODE, MESENTERIC						
Infiltrate, Neutrophilic	1	0	0	0	0	0
SKELETAL MUSCLE						
Infiltrate, Mononuclear Cell, Multifocal	0	0	0	0	1	0
SPINAL CORD, CERVICAL						
Infiltrate, Mononuclear Cell, Perivascular, Multifocal	0	0	0	0	1	0
TONGUE						
Infiltrate, Mononuclear Cell, Multifocal	0	1	0	0	0	1
UTERUS						
Hemorrhage. Multifocal	-	1	-	3	-	2
Infiltrate, Mononuclear Cell, Multifocal	-	1	-	3	-	2
SKIN						
Inflammation, Mixed Cell, Multifocal	0	0	0	1	0	0
Erosion Epithelium, Focal	0	0	0	1	0	0
LYMPH NODES, AXILLARY						
Hemorrhage, Multifocal	0	0	0	1	0	0
INJECTION SITE, LEFT FORELIMB						

表 2.6.7-12　カニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性試験（続き）

Hemorrhage, Focal	0	0	0	0	1	0
Hemorrhage, Multifocal	0	2	0	0	0	2
Infiltrate, Mononuclear Cell, Focal	1	0	1	0	0	0
Infiltrate, Mononuclear Cell, Multifocal	0	2	0	0	0	1
INJECTION SITE, RIGHT FORELIMB						
Hemorrhage, Focal	2	0	0	0	0	1
Hemorrhage, Multifocal	1	2	1	1	2	1
Inflammation, Granulomatous, Focal	0	0	1	0	0	0
Infiltrate, Mononuclear Cell, Focal	0	0	1	0	0	0
Infiltrate, Mononuclear Cell, Multifocal	1	1	0	1	0	0
Investigation of Immune Response – Induction of Drug Antibodies[g]						
Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Anti-Drug Substance (P1101) Antibodies in Serum[h]						
Animals Tested Positive on Day 8	0/3	0/3	3/3	2/3	0/3	2/3
Animals Tested Positive on Day 15	0/3	0/3	1/3	0/3	1/3	2/3
Anti-Active Moiety (INFα 2b, P1040) Antibodies in Serum[i]						
Animals Tested Positive on Day 8	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	1/3
Animals Tested Positive on Day 15	0/3	0/3	3/3	3/3	2/3	2/3
Drug Neutralizing Antibodies	Not detected on Days 8 or 15.					

Group mean ± Standard deviation, where applicable.
ANOVA with Dunnett's test if applicable: *p<0.05, **p<0.01
a – Samples for TK analysis were obtained at pre-dose, 8, 12, 24, 48 and 72 h after dosing and Day 15.

b – For females, data were derived from only three time points: 48 and 72 h after dosing and Day 15.
c – Controls: mean body weights are shown. Treatment groups: percent difference from control is shown. Statistical analysis is based on actual data (not on the percent differences).
d – Qualitative assessment of food consumption graded as good, fair and poor. Number of animals showing fair or poor food consumption on individual days is shown.
e – Number of affected animals is shown.
f – Organ weights were normalized to body weight at sacrifice. Control groups: Mean organ normalized weights are shown. Treatment groups: percent differences from controls are shown. Statistical analysis is based on actual data (not on the percent differences).
g –Detection of anti-drug antibodies was performed at Bridge Laboratories, Beijing, China with a validated method (Validation Report No. MV44108-08-19). The cell based method for detection of neutralizing antibodies was not validated, thus detection of the neutralizing antibodies was not performed under GLP regulations.
h – Drug substance (P1101) was used to coat the ELISA plates and capture the antibodies.
i – Active moiety INFα 2b (P1040) was used to coat the ELISA plates and capture the antibodies.

2.6.7.7.4 カニクイザルを用いた 2 つのロットの 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性比較試験（4.2.3.2.6 Study No. 7975-107）

表 2.6.7-12 カニクイザルを用いた 2 つのロットの 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性比較試験

Report Title: 2-Week Subcutaneous Administration Toxicity, Toxicokinetics and Immunogenicity Bridging Study of Two Lots of P1101 in Cynomolgus Monkeys		**Test Article:** P1101
Species / Strain: Monkey / Cynomolgus	**Duration of Dosing:** 14 days, on Days 1, 4, 8 and 11	**Study Number:** 7975-107 (4.2.3.2.6)
Initial Age: 2-3 years old	**Duration of Post-dose:** Animals were sacrificed 4 Days after the last dose. No recovery groups were included in the study.	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Subcutaneous	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Immunogenicity Assessment	**Vehicle / Formulation:** Formulation Buffer:2.3.P.2.1	
No Observed Adverse-Effect Level: Not applicable		

表 2.6.7-13　カニクイザルを用いた 2 つのロットの 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性比較試験（続き）

Dose (mg/kg/dose)	**0**		**0.675 (Lot No. DPL-0006-5)**		**0.675 (Lot No. 08-DPL-B001)**	
Number of Animals	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**
Toxicokinetics[a]						
Day 1 (First Dose)						
AUC_{last} [h•μg/mL]	-	-	684.26 ± 198.55	431.30 ± 27.10	778.67 ± 94.50	545.68 ± 89.99
C_{max} [μg/mL]	-	-	13.34 ± 5.20	7.02 ± 0.30	15.13 ± 1.59	9.46 ± 1.56
Day 11 (Last Dose)						
AUC_{last} [h•μg/mL]	-	-	1418.32 ± 223.69	1246.81 ± 595.89	1613.93 ± 130.33	1844.03 ± 258.86
C_{max} [μg/mL]	-	-	18.06 ± 2.49	20.20 ± 2.59	25.71 ± 2.81	26.05 ± 0.88

表 2.6.7-13　カニクイザルを用いた 2 つのロットの 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性比較試験（続き）

Noteworthy Findings						
Dose (mg/kg/dose)	0		0.675 (Lot No. DPL-0006-5)		0.675 (Lot No. 08-DPL-B001)	
Number of Animals	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:3**
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%[b])	2.433 kg ± 0.231	2.267 kg ± 0.208	-6.85	-7.35	-5.48	-5.88
Body Weight Gain[c] (kg)	0.1 ± 0.06	0.0 ± 0.0	-0.1 ± 0.12	-0.0 ± 0.06	0.0 ± 0.06	-0.1* ± 0.00
Food Consumption[d]						
Low	2	1	3	2	3	3
Clinical Observations						
Discharge, Appears to be Menstruating	0	0	0	0	0	1
Liquid Feces	0	0	1	0	1	1
Nonformed Feces	1	1	2	1	2	2
Dermal Irritation						
Erythema, Very Slight	0	2	0	0	0	0
Erythema, Well Defined	0	0	0	0	0	1
Ophthalmoscopy	No visible lesions.					
Electrocardiography	No treatment related findings.					
Hematology[e]						
RBC [10^6/μL]	4.82 ± 0.506	4.71 ± 0.107	4.69 ± 0.197	4.42 ± 0.457	4.03* ± 0.055	4.25 ± 0.357
RET [10^3/μL]	139.0 ± 20.51	120.6 ± 55.81	57.1* ± 27.00	63.0 ± 31.10	56.7* ± 6.13	32.2 ± 6.46
RET [%]	2.9 ± 0.69	2.6 ± 1.09	1.2* ± 0.62	1.4 ± 0.56	1.4* ± 0.17	0.8 ± 0.18
HGB [g/dL]	11.5 ± 0.98	11.1 ± 0.40	10.7 ± 0.26	10.5 ± 0.87	9.9 ± 0.53	10.4 ± 0.50
HCT [%]	36.8 ± 3.44	35.9 ± 1.28	34.1 ± 1.50	33.9 ± 3.19	31.6 ± 2.85	32.2 ± 3.13
MCV [fL]	76.6 ± 0.93	76.1 ± 1.97	72.6 ± 2.56	76.8 ± 2.32	78.7 ± 7.52	75.8 ± 4.13

表 2.6.7-13　カニクイザルを用いた 2 つのロットの 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性比較試験（続き）

MCH [pg]	23.9 ± 0.57	23.6 ± 0.44	22.8 ± 1.35	23.9 ± 0.51	24.6 ± 1.59	24.4 ± 0.93
MCHC [g/dL]	31.2 ± 0.53	31.0 ± 1.28	31.4 ±1.51	31.1 ± 1.19	31.4 ± 1.25	32.3 ± 1.77
PLT [10^3/µL]	616 ± 135.1	406 ± 84.3	451* ± 11.5	374 ± 17.5	348* ± 23.4	403 ± 43.5
WBC [10^3/µL]	11.31 ± 1.967	7.67 ± 1.904	7.46* ± 1.017	6.26 ± 0.681	7.52* ± 1.060	4.82 ± 1.085
NEUT [10^3/µL]	4.23 ± 1.376	3.69 ± 1.582	2.32 ±1.407	3.53 ± 1.369	2.05 ± 0.164	2.06 ± 1.004
LYM [10^3/µL]	6.57 ± 0.670	3.69 ± 1.036	4.59 ± 0.839	2.43 ± 0.811	4.97 ± 1.129	2.51 ± 0.656
LUC [10^3/µL]	0.09 ± 0.006	0.09 ± 0.061	0.07 ± 0.000	0.07 ± 0.025	0.09 ± 0.017	0.05 ± 0.010
MONO [10^3/µL]	0.31 ± 0.042	0.24 ± 0.081	0.43 ± 0.064	0.19 ± 0.072	0.34 ± 0.091	0.16 ± 0.080
EOS [10^3/µL]	0.07 ± 0.035	0.06 ± 0.076	0.01* ± 0.006	0.02 ± 0.017	0.00* ± 0.006	0.02 ± 0.026
BASO [10^3/µL]	0.05 ± 0.012	0.03 ± 0.012	0.04 ± 0.006	0.03 ± 0.012	0.04 ± 0.010	0.02 ± 0.010
PT [s]	13.7 ± 0.06	13.7 ± 0.52	13.4 ± 0.38	13.4 ± 0.81	12.6* ± 0.12	13.1 ± 0.47
APTT [s]	23.3 ± 1.01	23.2 ±1.05	26.4 ± 0.42	29.7 ± 4.86	29.7* ± 2.77	28.7 ± 3.30
Clinical Biochemistry						
GLU [mg/dL]	68 ± 28.0	76 ± 7.5	81 ± 10.1	74 ± 25.1	82 ± 25.9	74 ± 22.6
UN [mg/dL]	21 ± 4.0	19 ± 2.6	21 ± 5.0	28 ± 9.3	19 ± 5.5	28 ± 3.8
CREA [mg/dL]	0.6 ± 0.06	0.5 ±0.06	0.6 ± 0.10	0.6 ± 0.10	0.6 ± 0.06	0.6 ± 0.06
ALP [U/L]	595 ± 246.5	321 ± 45.9	269* ± 60.1	302 ± 119.2	285* ± 40.3	354 ± 164.8
CHOL [mg/dL]	109 ± 16.3	141 ± 50.5	130 ± 19.0	131 ± 32.9	134 ± 21.0	162 ± 13.2
AST [U/L]	84 ± 15.0	60 ± 19.9	67 ± 8.1	102 ± 27.8	99 ± 10.1	98 ± 20.7
ALT [U/L]	88 ± 28.5	64 ± 8.9	67 ± 16.5	78 ± 22.9	61 ± 9.7	95 ± 18.6
TP [g/dL]	7.6 ± 0.70	7.5 ± 0.35	6.7 ± 0.50	7.0 ± 0.32	6.5 ± 0.15	6.4 ± 0.72
ALB [g/dL]	4.7 ± 0.36	4.7 ± 0.21	4.2 ± 0.20	4.2 ± 0.31	4.0 ± 0.21	4.0 ± 0.55
GLOB [g/dL]	2.9 ± 0.38	2.7 ± 0.38	2.5 ± 0.30	2.8 ± 0.36	2.4 ± 0.32	2.4 ± 0.17
ALB/GLOB Ratio	1.6 ± 0.14	1.8 ± 0.30	1.7 ± 0.12	1.5 ± 0.25	1.7 ± 0.28	1.6 ± 0.11
Ca [mg/dL]	10.1 ± 0.44	9.5 ± 0.46	9.0 ± 0.51	8.9 ± 0.20	8.6* ± 0.00	8.9 ± 0.53

表 2.6.7-13　カニクイザルを用いた 2 つのロットの 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性比較試験（続き）

TBIL [mg/dL]	0.3 ± 0.06	0.2 ± 0.06	0.2* ± 0.00	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.06	0.3 ± 0.06
TRIG [mg/dL]	55 ± 33.0	27 ± 6.5	26 ± 4.5	36 ± 5.8	27 ± 1.2	26 ± 4.4
PHOS [mg/dL]	6.9 ± 0.12	5.7 ± 0.81	4.9* ± 0.26	4.6 ± 0.40	5.5 ± 0.55	5.0 ± 0.50
GGT [U/L]	72 ± 22.7	53 ± 12.9	40 ± 15.9	34 ± 8.1	38 ± 3.6	40 ± 5.6
Na [mmol/L]	147 ± 1.0	147 ± 4.5	145 ± 1.5	144 ± 0.6	147 ± 1.5	146 ± 1.2
K [mmol/L]	4.9 ± 0.50	3.9 ± 0.26	4.1 ± 0.44	4.0 ± 0.38	4.0 ± 0.20	4.5 ± 0.78
Cl [mmol/L]	106 ± 1.2	107 ± 2.1	106 ± 3.5	106 ± 0.0	109 ± 2.1	107 ± 1.5
Urinalysis	No test article or lot related effects.					
Relative Organ Weights (%[f])						
Brain	2.747 ± 0.2644	2.832 ± 0.3154	+4.84	-1.45	+1.38	+1.34
Heart	0.354 ± 0.0147	0.407 ± 0.0860	+14.12	-20.15	+0.28	-18.43
Kidney	0.444 ± 0.0475	0.454 ± 0.0838	-0.45	-4.85	-3.38	+10.57
Lung	0.510 ± 0.0692	0.543 ± 0.0971	+5.69	-9.21	+8.82	-2.58
Spleen	0.146 ± 0.0503	0.173 ± 0.0523	+17.12	+6.36	+8.90	-15.61
Liver / Gallbladder	1.998 ± 0.0538	2.304 ± 0.4230	+17.62*	-5.12	+4.00	-6.86
Adrenal	0.023 ± 0.0012	0.027 ± 0.0059	0.00	-14.81	+13.04	-11.11
Pituitary	0.002 ± 0.0004	0.002 ± 0.0006	0.00	-50.00	-50.00	0.00
Thymus	0.126 ± 0.0429	0.064 ± 0.0218	-50.79	-9.38	-42.86	+6.25
Thyroid/Parathyroid	0.021 ± 0.0040	0.013 ± 0.0020	-42.86*	0.00	-23.81	+7.69
Mandibular Salivary Gland	0.073 ± 0.0112	0.080 ± 0.0052	-13.70	0.00	-19.18	-10.00
Epididymis	0.026 ± 0.0173	-	-7.69	-	-30.77	-
Seminal Vesicle	0.043 ± 0.0402	-	-44.19	-	-41.86	-
Prostate	0.019 ± 0.0088	-	0.00	-	-15.79	-
Testis	0.033 ± 0.0093	-	+42.42	-	-12.12	-
Uterus	-	0.152 ± 0.0749	-	-17.76	-	-46.05

表 2.6.7-13　カニクイザルを用いた 2 つのロットの 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性比較試験（続き）

Ovary	-	0.010 ± 0.0014	-	-20.00	-	-20.00
Gross Pathology						
LUNG						
Adhesion	1	0	0	1	0	1
Uncollapsed	1	0	0	0	0	0
Histopathology						
ADRENAL, MEDULLA						
Mineralization	0	1	0	0	0	0
THYROID						
Thymus, Ectopic	3	0	1	0	1	0
LUNG						
Pigment	1	1	0	0	1	2
Fibrosis, Pleural/Subpleural	1	0	0	1	0	1
LIVER						
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	0	1	0	1	0	0
KIDNEY						
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	0	2	0	0	1	0
PANCREAS						
Hemorrhage	0	0	0	0	1	0
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	0	0	0	0	1	0
MANDIBULAR SALIVARY GLAND						
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	0	1	0	1	0	1

表 2.6.7-13　カニクイザルを用いた 2 つのロットの 14 日間反復皮下投与毒性、トキシコキネティクス及び免疫原性比較試験（続き）

THYMUS						
Cyst	0	1	0	1	1	0
TESTIS						
Immature	3	-	3	-	3	-
VAGINA						
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	-	0	-	1	-	0
CERVIX						
Infiltrate, Lymphocytes/Macrophages	-	0	-	1	-	0
INJECTION SITE						
Hemorrhage	1	1	0	0	0	1
Fibrosis	1	0	0	0	0	0
Investigation of Immune Response – Induction of Anti-Drug Antibodies[g]						
Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Anti-Drug Substance (P1101) Antibodies in Serum						
Animals Tested Positive on Day 14	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3	0/3

Group mean ± Standard deviation, where applicable.
ANOVA with Dunnett's test if applicable: *p<0.05
a – Samples for TK analysis were obtained at pre-dose, 8, 12, 24, 48 and 72 h after dosing.
b – Controls: Terminal mean body weights at sacrifice are shown. Treatment groups: percent difference from control is shown. Statistical analysis is based on actual data (not on the percent differences).
c – Body weight gain for the interval between the start and end of the dosing phase.
d – Qualitative assessment, number of affected animals is shown.
e – Analyzed at sacrifice on Day 14.
f – Organ weights were normalized to body weight at sacrifice. Control groups: Mean ± Standard deviation normalized organ weights are shown. Treatment groups: percent differences from controls are shown. Statistical analysis is based on actual data (not on the percent differences).
g – The detection of the anti-drug antibodies was performed at Catalent Pharma Solutions, NJ, USA with a transferred validated method developed at Bridge Laboratories, Beijing, China (Validation Report No. MV44108-08-19). A GLP compliance certificate was issued by the Quality Assurance department of the PharmaEssentia.

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（4.2.3.3.1.1 Study No. 7975-104）

表 2.6.7-13 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験

<table>
<tr><td colspan="2">Report Title: Salmonella-Escherichia coli/Mammalian-Microsome Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay</td><td colspan="2">Test Article: P1101</td></tr>
<tr><td colspan="2">Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells</td><td>No. of Independent Assays: 3</td><td rowspan="2">Study Number: 7975-104
(4.2.3.3.1.1)</td></tr>
<tr><td colspan="2">Strain: S. Typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA1537), Escherichia coli (WP2uvrA)</td><td>No. of Replicate Cultures: 3</td></tr>
<tr><td colspan="2">Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9 (10% S9, 500 µL/plate)</td><td>No. of Cells Analyzed/Culture: -</td><td>GLP Compliance: Yes</td></tr>
<tr><td colspan="2">Vehicle: Formulation Buffer:2.3.P.2.1</td><td>Positive Controls: benzo[a]pyrene, 2-aminoanthracene, 2-nitrofluorene, sodium azide, ICR-191, 4- nitroquinoline-N-oxide</td><td>Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]</td></tr>
<tr><td>Treatment:</td><td colspan="3">Plate incorporation method with or without S9 mix</td></tr>
<tr><td>Cytotoxic Effects:</td><td colspan="3">None</td></tr>
<tr><td>Genotoxic Effects:</td><td colspan="3">None</td></tr>
</table>

表 2.6.7-14　ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Microsomes: Rat Liver	**Test Article**	**Dose Level (µg/plate)**	**1st Experiment: Range Finder Experiment**				
			Revertant Colony Counts				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
Without Activation	Placebo	250 µL/plate	-	76	-	-	19
	P1101	6.67	-	71	-	-	20
		10.0	-	69	-	-	10
		33.3	-	61	-	-	6
		66.7	-	63	-	-	8
		100	-	56	-	-	10
		333	-	42	-	-	17
		667	-	57	-	-	18
		1000	-	49	-	-	12
		3330	-	60	-	-	11
		5000	-	47	-	-	10
With Activation	Placebo	250 µL/plate	-	95	-	-	19
	P1101	6.67	-	97	-	-	25
		10.0	-	94	-	-	17
		33.3	-	72	-	-	16
		66.7	-	93	-	-	20
		100	-	94	-	-	15
		333	-	73	-	-	24
		667	-	78	-	-	18
		1000	-	81	-	-	28
		3330	-	77	-	-	14
		5000	-	71	-	-	25

表 2.6.7-14　ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	2nd Experiment: Main Experiment (Trial 29344-B1)[a]				
			Revertant Colony Counts (Mean ± Standard deviation)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Without Activation	Placebo	250 µL/plate	4 ± 3	48 ± 22	6 ± 4	2 ± 2	15 ± 4
	P1101	33.3	4 ± 3	34 ± 13	3 ± 2	2 ± 2	14 ± 3
		100	6 ± 1	34 ± 8	3 ± 1	5 ± 1	13 ± 2
		333	2 ± 1	46 ± 12	5 ± 2	2 ± 2	9 ± 5
		1000	4 ± 1	37 ± 9	4 ± 2	6 ± 5	13 ± 7
		3330	3 ± 3	35 ± 12	4 ± 1	3 ± 3	14 ± 3
		5000	6 ± 1	30 ± 16	7 ± 5	4 ± 2	16 ± 6
	Positive Controls:						
	2-nitrofluorene	1.0	521 ± 81	-	-	-	-
	Sodium azide	2.0	-	1044 ± 98	414 ± 154	-	-
	ICR-191	2.0	-	-	-	439 ± 57	-
	4-nitroquinoline-N- oxide	1.0	-	-	-	-	341 ± 68
With Activation	Placebo	250 µl/plate	15 ± 5	82 ± 11	15 ± 7	3 ± 3	19 ± 5
	P1101	33.3	11 ± 4	73 ± 12	7 ± 4	7 ± 3	14 ± 5
		100	13 ± 4	77 ± 4	10 ± 1	6 ± 2	22 ± 6
		333	10 ± 4	76 ± 7	7 ± 4	6 ± 0	14 ± 3
		1000	12 ± 2	61 ± 2	8 ± 2	3 ± 1	18 ± 2
		3330	17 ± 6	52 ± 7	7 ± 4	5 ± 1	21 ± 6
		5000	19 ± 7	70 ± 7	7 ± 2	5 ± 3	11 ± 4
	Positive Controls:						
	Benzo[a]pyrene	2.5	354 ± 10	-	-	-	-
	2-aminoanthracene	2.5	-	422 ± 184	116 ± 20	31 ± 4	-
	2-aminoanthracene	25.0	-	-	-	-	492 ± 23

表 2.6.7-14　ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	3rd Experiment: Confirmatory Assay (Trial 29344-C1)[b]				
			Revertant Colony Counts (Mean ± Standard deviation)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Without Activation	Placebo	250 µl/plate	11 ± 5	81 ± 5	4 ± 4	1 ± 1	15 ± 6
	P1101	33.3	10 ± 5	72 ± 6	9 ± 3	3 ± 2	9 ± 3
		100	10 ± 2	78 ± 8	7 ± 2	2 ± 1	12 ± 3
		333	9 ± 3	70 ± 11	8 ± 0	2 ± 1	11 ± 4
		1000	16 ± 3	98 ± 19	6 ± 1	3 ± 2	12 ± 2
		3330	10 ± 4	70 ± 17	8 ± 5	2 ± 1	15 ± 3
		5000	10 ± 2	77 ± 6	7 ± 0	5 ± 1	16 ± 11
	Positive Controls:						
	2-nitrofluorene	1.0	323 ± 42	-	-	-	-
	Sodium azide	2.0	-	907 ± 30	686 ± 77	-	-
	ICR-191	2.0	-	-	-	236 ± 38	-
	4-nitroquinoline-N- oxide	1.0	-	-	-	-	176 ± 80
With Activation	Placebo	250 µl/plate	23 ± 3	95 ± 22	12 ± 3	4 ± 1	16 ± 1
	P1101	33.3	23 ± 8	98 ± 18	9 ± 5	3 ± 1	12 ± 2
		100	20 ± 6	86 ± 11	12 ± 4	4 ± 3	16 ± 3
		333	24 ± 1	87 ± 4	9 ± 5	4 ± 2	15 ± 6
		1000	31 ± 5	97 ± 10	7 ± 3	8 ± 2	10 ± 4
		3330	23 ± 6	80 ± 9	12 ± 2	7 ± 3	12 ± 9
		5000	17 ± 4	94 ± 13	9 ± 4	3 ± 2	15 ± 4
	Positive Controls:						
	Benzo[a]pyrene	2.5	404 ± 48	-	-	-	-
	2-aminoanthracene	2.5	-	1084 ± 84	129 ± 8	79 ± 11	-
	2-aminoanthracene	25.0	-	-	-	-	321 ± 57

表 2.6.7-14　ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	4th Experiment: Confirmatory Assay (Trial 29344-D1)				
			Revertant Colony Counts (Mean ± Standard deviation)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Without Activation	Placebo	250 µl/plate	12 ± 6	90 ± 4	-	6 ± 1	-
	P1101	33.3	10 ± 5	75 ± 5	-	5 ± 3	-
		100	13 ± 2	75 ± 2	-	4 ± 1	-
		333	14 ± 6	72 ± 10	-	5 ± 2	-
		1000	16 ± 4	72 ± 5	-	5 ± 4	-
		3330	17 ± 3	73 ± 6	-	6 ± 1	-
		5000	15 ± 4	81 ± 13	-	6 ± 2	-
	Positive Controls:						
	2-nitrofluorene	1.0	311 ± 53	-	-	-	-
	Sodium azide	2.0	-	1227 ± 29	-	-	-
	ICR-191	2.0	-	-	-	261 ± 35	-

Group mean ± Standard deviation, where applicable.
a – The mean vehicle control values for TA98 and TA100 in the absence of S9 mix were not within the acceptable ranges for these tester strains. All other data were acceptable.
b – The mean vehicle control values for TA1537 in the absence of S9 were not within the acceptable ranges for these tester strains. All other data were acceptable.

2.6.7.8.2 チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた染色体異常試験（4.2.3.3.1.2 Study No. 7975-105）

表 2.6.7-14 チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた染色体異常試験

<table>
<tr><td colspan="2">Report Title: Effect of PEG-INF α 2b on Chromosomal Aberrations in Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells</td><td>Test Article: P1101</td></tr>
<tr><td>Test for Induction of: Chromosome aberrations</td><td>No. of Independent Assays: 2[a]</td><td rowspan="2">Study Number: 7975-105 (4.2.3.3.1.2)</td></tr>
<tr><td>Strain: Chinese hamster ovary (CHO) cells</td><td>No. of Replicate Cultures: 2</td></tr>
<tr><td>Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9, 1.5%</td><td>No. of Cells Analyzed/Culture: Intended number was 100 cells.</td><td>GLP Compliance: Yes</td></tr>
<tr><td>Vehicles: Formulation Buffer:2.3.P.2.1</td><td>Positive Controls: mitomycin C, cyclophosphamide</td><td>Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]-[redacted] 20[redacted]</td></tr>
<tr><td colspan="3">Treatment: Without S9 mix: 20 hours. With S9 mix: 3 hours. Culture duration: approximately 20 hours from initiation of the treatment.</td></tr>
<tr><td colspan="3">Cytotoxic Effects: Dose-dependent decreases in mitotic indices.</td></tr>
<tr><td colspan="3">Genotoxic Effects: P1101 was negative for inducing chromosomal aberrations in CHO cells without metabolic activation, but equivocal with metabolic activation at concentrations of 795 µg/mL and above.</td></tr>
</table>

表 2.6.7-15　チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた染色体異常試験（続き）

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Initial Assay (Trial B2)			
			Mean			
			Mitotic Index Reduction (%)	Aberrant Cells[b] Mean %	Polyploid Cells Mean %	Cells with Endoreduplication Mean %
Without Activation (3-hour treatment)	Placebo	100 µL/mL	0	2.0	4.0	0.0
	P1101	199	10	1.5	6.0	4.5*
		398	29	3.0	4.5	4.5*
		795	53	3.0	5.5	1.5
	Positive control: Mitomycin C	0.750	-	55.0*	1.0	0.0
With Activation (3-hour treatment)	Placebo	100 µL/mL	0	2.0	8.0	0.5
	P1101	596	0	1.0	4.5	4.5*
		795	0	1.5	6.0	6.0*
		1190	31	8.0*	6.5	0.5
	Positive control: Cyclophosphamide	7.50	-	40.0*	4.0	0.0

表 2.6.7-15　チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた染色体異常試験（続き）

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Confirmatory Assay (Trial C2)			
			Mean			
			Mitotic Index Reduction (%)	Aberrant Cells[b] Mean %	Polyploid Cells Mean %	Cells with Endoreduplication Mean %
Without Activation (20-hour treatment)	Negative control: McCoy's 5a medium	-	-	1.5	3.5	0.0
	Placebo	100 µL/mL	0	3.0	3.0	0.5
	P1101	12.5	16	4.0	4.5	0.0
		25.0	23	1.5	7.0	1.5
		50.0	44	3.0	4.5	1.5
	Positive Control: Mitomycin C	0.200	-	40.8*	3.5	0.5
With Activation (3-hour treatment)	Negative control: McCoy's 5a medium	-	-	1.0	5.5	0.5
	Placebo	100 µL/mL	0	1.5	7.0	0.0
	P1101	596	8	3.0	4.0	2.5
		795	13	23.3*	4.0	0.5
		1190[c]	58	17.0*	3.0	2.0
	Positive Control: Cyclophosphamide	7.50	-	44.0*	6.5	0.5

Fisher's exact test. * $p<0.01$

[a] – The first two experiments (initial and confirmatory) were performed with the $1/56^{th}$ of the intended concentration of the test item. Thus, only data from the repeated experiments with correct concentrations of the test item are reported.

b – % of cells with chromosomal aberrations including chromosomal gaps.

c – Results from one replicate culture only.

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1 ラットを用いた 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験

表 2.6.7-16 ラットを用いた 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス、並びに 4 週間回復試験- 末梢血小核評価

Report Title: 13-Week Subcutaneous Toxicity and Toxicokinetic Study with a 4-Week Recovery in Rats Ropeginterferon alpha-2b (P1101)		**Test Article:** P1101
Species / Strain: Rat / CD (SD) IGS	**Duration of Dosing:** 13 weeks, on Days 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78 and 85	**Study Number:** 511-20060035 (4.2.3.2.1)
Initial Age: Approximately 9 weeks old	**Duration of Post-dose:** 4 weeks	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Subcutaneous	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Immunogenicity assessment	**Vehicle / Formulation:** Formulation Buffer:2.3.P.2.1）	
No Observed Adverse-Effect Level: 4 mg/kg		
Noteworthy Findings		

Dose (mg/kg/dose)	**0**		**0.4**		**1.4**		**4**	
Number of Animals	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Micronucleus analysis – PCE%	2.72 ± 0.99	2.20 ± 0.73	2.19 ± 0.30	2.14 ± 0.77	2.22 ± 0.35	2.25 ± 0.42	2.62 ± 0.79	2.27 ± 0.33
Micronucleus analysis – MN‰ PCE	0.44 ± 0.51	0.39 ± 0.31	0.29 ± 0.37	0.24 ± 0.32	0.34 ± 0.36	0.23 ± 0.25	0.39 ± 0.44	0.36 ± 0.28

There was no statistical difference among all testing groups and the control group ($p \leq 0.05$).

2.6.7.10　がん原性試験

がん原性試験は実施していない。

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

重要な試験以外の生殖発生毒性試験は実施していない。

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施していない。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.1 カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験（4.2.3.5.2.1 Study No. SBL462-004）

表 2.6.7-15 カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験

<table>
<tr><td colspan="2">Report Title: Study for Effects on Embryo-Fetal Development in Cynomolgus Monkeys Subcutaneously Administered P1101</td><td>Test Article: P1101</td></tr>
<tr><td>Species / Strain: Monkey / Cynomolgus</td><td>Duration of Dosing: During organogenesis on Gestation Days 20, 23, 27, 30, 34, 37, 41, 44 and 48</td><td rowspan="2">Study Number: SBL462-004 (4.2.3.5.2.1)</td></tr>
<tr><td>Initial Age: 4 to 10 years old (at the beginning of mating)</td><td>Cesarean Section: Gestation Day 100</td></tr>
<tr><td>Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]</td><td>Method of Administration: Subcutaneous</td><td>GLP Compliance: Yes</td></tr>
<tr><td>Special Features: Immunogenicity assessment</td><td colspan="2">Vehicle / Formulation: Formulation Buffer:2.3.P.2.1</td></tr>
<tr><td colspan="3">No Observed Adverse-Effect Level: < 0.675 mg/kg for general toxicity and reproductive function in dams, and 2 mg/kg for fetuses</td></tr>
</table>

表 2.6.7-16　カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Dose (mg/kg/dose)	**0**	**0.675**	**2**
Number of Animals	**12**	**12**	**12**
Toxicokinetics[a]			
Gestation Day 20			
$AUC_{0\text{-}72h}$ [h•μg/mL]	-	499 ± 125	1750 ± 290
C_{max} [μg/mL]	-	8.54 ± 1.97	29.8 ± 5.6
T_{max} [h]	-	64 ± 19	68 ± 14
Gestation Day 48			
$AUC_{0\text{-}72h}$ [h•μg/mL]	-	2.86 ± 3.81	463 ± 1282
C_{max} [μg/mL]	-	0.220 ± 0.271	7.97 ± 19.57
T_{max} [h]	-	6 ± 2	10 ± 5

表 2.6.7-16　カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Noteworthy Findings			
Dose (mg/kg/dose)	**0**	**0.675**	**2**
Number of Animals	**12**	**12**	**12**
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0
Pregnancy Status			
Abortion	1	4	1
Embryonic Death	0	1	2
Individual Body Weight (%[b])	-	–12.3% and –13.4% (2 dams)	–17.8 to –10.7% (4 dams)
Food Consumption (g food/animal/day)			
Gestation Days 24 to 25	97.5 ± 15.2	67.5* ± 32.3	71.5* ± 26.8
Gestation Days 25 to 26	87.3 ± 31.2	56.5 ± 32.4	54.0* ± 32.6
Gestation Days 28 to 29	97.6 ± 17.4	66.0* ± 32.5	61.6* ± 39.3
Gestation Days 29 to 30	94.9 ± 19.5	66.5 ± 37.5	60.0* ± 36.3
Gestation Days 30 to 31	92.7 ± 16.4	73.5 ± 30.5	57.8* ± 36.0
Gestation Days 32 to 33	76.4 ± 31.5	40.7* ± 30.0	44.2* ± 33.3
Gestation Days 34 to 35	98.2 ± 11.8	72.0 ± 34.5	71.5* ± 27.8
Gestation Days 36 to 37	96.5 ± 14.8	78.0 ± 25.3	70.9* ± 31.2
Clinical Observations	No treatment related findings.		
Cesarean Section			
Number of Viable Fetuses	11 (7 males and 4 females)	7 (5 males and 2 female)	9 (5 males and 4 females)
Fetal Weight	No treatment related changes.		

表 2.6.7-16　カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Fetal Organ Weight (mg)			
Testis, Right	14.7 ± 3.3	13.2 ± 1.1	10.6* ± 1.5
Testis, Left	14.7 ± 3.3	13.2 ± 0.8	10.8* ± 1.9
Fetal External Measurements	No treatment related changes.		
Fetal External Examination	No abnormalities.		
Fetal Visceral Examination[c]			
Abnormalities	No abnormalities.		
Variations			
Thymic Remnant in Neck	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (11.1%)
Fetal Skeletal Examination[c]			
Abnormalities	No abnormalities.		
Variations			
Full Supernumerary Rib	3 (27.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Short Supernumerary Rib	3 (27.3%)	0 (0.0%)	1 (11.1%)
Fetal Skeletal Development and Length			
Number of Vertebral Centrum	No treatment related changes.		
Length of Ulna (mm)	23.23 ± 1.82	23.93 ± 1.14	24.76*± 0.95
Length of fibula (mm)	18.55 ± 1.36	18.93 ± 1.20	19.93*± 0.76
Placental Weight	No treatment related changes.		
Placental Measurements	No treatment related changes.		

表 2.6.7-16　カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Placental External examination[d]			
Fused Placenta	3	0	1
Single placenta	2	4	0
Amniotic Fluid Volume	No treatment related changes.		

Group mean ± Standard deviation, where applicable.
Quantitative data were analyzed by Bartlett's test for homogeneity of variance. When the variance was homogeneous, Dunnett's test was applied to compare the control group and test article groups. When the variance was heterogeneous by Bartlett's test, a Dunnett-type test (Miller test) was applied to compare the control group and test article groups. Incidental data were analyzed by the chi-square test the control group and each test article group: *$p<0.05$
a – Samples for TK analysis were obtained at pre-dose, 4, 8, 12, 24, and 72 h after dosing.
b – %Difference of individual body weight on Gestation Day 34 compared with those on Gestation Day 20.
c – Number of fetuses with findings (%fetuses with findings to all fetuses examined in respective groups).
d – Number of dams with findings.

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施していない。

2.6.7.15　新生児を用いた試験

新生児を用いた試験は実施していない。

2.6.7.16 局所刺激性試験

単独の局所刺激性試験は実施していない。反復投与毒性試験（4.2.3.2.1 Study No. 511-20060035、4.2.3.2.4 Study No. 7975-101、4.2.3.2.5 Study No. 44103-08-300 及び 4.2.3.2.6 Study No. 7975-107）で局所刺激性を評価した（2.6.7.7.1、2.6.7.7.2、2.6.7.7.3 及び 2.6.7.7.4）。

2.6.7.17　その他の毒性試験

その他の毒性試験は実施していない。